



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

Implicación de CCR5/CCL5 en la fisiopatología del ictus

Autor/es

MAURICIO ERNESTO OROZCO UGARRIZA

Director/es

LAURA OCHOA CALLEJERO y ALFREDO MARTINEZ RAMIREZ

Facultad

Escuela de Máster y Doctorado de la Universidad de La Rioja

Titulación

Máster Universitario en Química y Biotecnología

Departamento

ENFERMERÍA

Curso académico

2019-20



Implicación de CCR5/CCL5 en la fisiopatología del ictus, de MAURICIO
ERNESTO OROZCO UGARRIZA

(publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative
Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.
Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los
titulares del copyright.

IMPLICACIÓN DE CCR5/CCL5 EN LA FISIOPATOLOGÍA DEL ICTUS

Autor:

MAURICIO E. OROZCO UGARRIZA

Tutores:

LAURA OCHOA CALLEJERO

ALFREDO MARTÍNEZ RAMÍREZ

MÁSTER:

QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

Escuela de Máster y Doctorado



**UNIVERSIDAD
DE LA RIOJA**

AÑO ACADÉMICO:2019/2020

Logroño, España

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--|----|
| RESUMEN..... | 8 |
| ABSTRACT | 9 |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 10 |
| 1.1. Clasificación del ictus..... | 12 |
| 1.1.1 <i>Ictus Isquémico.</i> | 13 |
| 1.1.2 <i>Ictus Hemorrágico.</i> | 14 |
| 1.2. Epidemiología del ictus | 15 |
| 1.3. Diagnóstico del ictus | 17 |
| 1.4. Pronóstico clínico y desenlaces del ictus | 18 |
| 1.4.1. <i>Escalas para la valoración pronóstica del ictus</i> | 19 |
| 1.5. Biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico del ictus | 21 |
| 1.6. Tratamiento del ictus | 22 |
| 1.7. Fisiopatología del ictus | 23 |
| 1.7.1. <i>Barrera hematoencefálica (BBB)</i> | 24 |
| 1.7.2. <i>Unidad neurovascular (UNV)</i> | 24 |
| 1.7.2.1. <i>Pericitos</i> | 26 |
| 1.7.2.2. <i>Astrocitos</i> | 26 |
| 1.7.2.3. <i>Neuronas</i> | 27 |
| 1.7.2.4. <i>Lamina basal</i> | 28 |
| 1.7.3. <i>Células endoteliales</i> | 29 |
| 1.7.3.1. <i>Oligodendrocitos</i> | 30 |
| 1.7.4. <i>Respuesta neuroinflamatoria celular durante el ictus</i> | 31 |
| 1.7.5. <i>Quimioquinas</i> | 35 |
| 1.7.5.1. <i>Clasificación de quimioquinas y sus receptores.</i> | 35 |
| 1.7.5.2. <i>Quimioquina CCL5/RANTES</i> | 36 |
| 1.7.5.3. <i>Receptor CCR5</i> | 37 |
| 1.7.6. <i>Daño por isquemia/reperfusión (I/R).</i> | 38 |
| 1.7.6.1. <i>Estrés oxidativo y nitrosativo en la I/R</i> | 40 |
| 1.7.6.2. <i>El óxido nítrico en la I/R</i> | 42 |
| 1.7.6.3. <i>Óxido nítrico neuronal</i> | 44 |
| 1.7.6.3.1. <i>Óxido nítrico endotelial</i> | 45 |
| 1.7.6.3.2. <i>Óxido nítrico derivado del iNOS</i> | 46 |
| 1.7.6.3.3. <i>Óxido nítrico y neuroreparación posterior al ictus</i> | 47 |
| 3. METODOLOGÍA | 49 |
| 3.1. Fuentes de información y estrategia de búsqueda | 49 |
| 3.2. Selección de estudios..... | 49 |
| 3.2.1. <i>Criterios de Inclusión</i> | 50 |
| 3.2.2. <i>Criterios de exclusión</i> | 50 |
| 3.3. Organización de la información | 50 |

| | |
|---|----|
| 3.4. Estrategia de extracción de datos | 51 |
| 4. RESULTADOS | 51 |
| 4.1. Identificación de estudios | 51 |
| 5. DISCUSIÓN | 62 |
| 5.1. Evaluación en modelos animales del efecto de CCL5/CCR5 en la neuroinflamación en ictus | 62 |
| 5.2. Evaluación de la asociación entre los polimorfismos de los genes CCR5 con el riesgo de ictus. | 67 |
| 5.3. Asociación entre los polimorfismos del gen CCL5 con el riesgo de ictus | 68 |
| 5.4. Asociación entre los niveles de CCL5 con el riesgo de desarrollar ictus | 70 |
| 6. CONCLUSIONES | 72 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA | 75 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1. Tomografía axial computarizada cerebral de ictus..... | 12 |
| Figura 2. Clasificación de la enfermedad cerebrovascular aguda (ECVA) según su naturaleza..... | 13 |
| Figura 3. Clasificación topográfica del ictus isquémico según los criterios OCSF. | 14 |
| Figura 4. Hemorragia intracerebral..... | 15 |
| Figura 5. Tasa global de Incidencia y mortalidad por ictus.. | 17 |
| Figura 6. Representación esquemática en sección transversal de un capilar cerebral de la unidad neurovascular (UNV). | 25 |
| Figura 7. El papel multifuncional de los pericitos del SNC en la NVU. | 26 |
| Figura 8. Acoplamiento neurovascular. | 27 |
| Figura 9. Ilustración de los componentes de la lámina basal en la NVU. | 28 |
| Figura 10. Uniones estrechas endoteliales..... | 30 |
| Figura 11. Representación esquemática de la estructura BBB antes y después del ictus. | 32 |
| Figura 12. Unidad Neurovascular (UNV). | 33 |
| Figura 13. Clasificación de la familia de quimioquinas CC (o β-quimioquinas) y sus respectivos receptores..... | 38 |
| Figura 14. Esquema de las variaciones de la permeabilidad de la BBB asociadas con la isquemia cerebral y el curso temporal de la reperfusión. | 39 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Las escalas de valoración neurológica para cuantificar la gravedad del ictus, progresión y desenlace..... | 20 |
| Tabla 2. Características de los estudios experimentales que emplean modelos animales de ictus para evaluar el efecto de CCR5/CCL5 en la neuroinflamación. | 52 |
| Tabla 3. Características de los estudios clínicos que evaluaron la asociación entre los polimorfismos de los genes CCR5 con el riesgo de ictus..... | 56 |
| Tabla 4. Características de los estudios clínicos que evaluaron la asociación entre los polimorfismos del gen CCL5 con el riesgo de ictus..... | 57 |
| Tabla 5. Características de los estudios clínicos que evaluaron la asociación entre los niveles de CCL5 con el riesgo de ictus..... | 59 |

ABREVIATURAS

ABVD: Actividades básicas de la vida diaria

ACI: Infarto cerebral aterotrombótico

AIT: Ataque isquémico transitorio

aSAH: Hemorragia subaracnoidea aneurismática (o en inglés, aneurysmal subarachnoid hemorrhage).

ATP: Adenosín trifosfato

BBB: Barrera hematoencefálica (o en inglés, Blood brain barrier)

BCCAo: Oclusión bilateral de la arteria carótida común (o en inglés, bilateral common carotid artery occlusion)

CCL5: Ligando-5 de quimioquinas

CCR5: Receptor-5 de quimioquinas

CNS: Canadian Neurological Scale

Ca⁺²: Calcio

CBF: flujo sanguíneo cerebral (o en inglés, Cerebral blood flow)

CRP: Proteína C reactiva

ESS: European Stroke Scale

eNOS: Sintasa de óxido nítrico endotelial

ECVA: Enfermedad cerebrovascular aguda

ECVI: Enfermedad cerebrovascular isquémica

ET-1: Endotelina-1

IBERICTUS: Estudios de incidencia de ictus en España

IC: Infarto cerebral.

IL-1 β : Interleuquina-1 β

IL-6: Interleuquina-6

I/R: Isquemia/reperfusión

iNOS: Sintasa de óxido nítrico de forma inducible

INF- γ : Interferón-gamma

IL-1: Interleuquina-1

LACI: Infarto lacunar

MMPs: Metaloproteinasas de la matriz (MMP-2, MMP-3, MMP-9)

NIHSS: National institute of Health Stroke Scale

NOS: Sintasa de óxido nítrico

nNOS: Sintasa de óxido nítrico de forma neuronal

OCSP: Oxfordshire Community Stroke Project

OMS: Organización mundial de la salud

ON: Óxido nítrico

O²⁻: Anión superóxido

OH: Radical hidroxilo

ONOO-: Anión peroxinitrito

PACI: Infarto parcial de la circulación anterior

POCI: Infarto de la circulación posterior

pCCAo: Oclusión Permanente de la Arteria Carótida Común (o en inglés, permanent common carotid artery occlusion)

pMCAo: Oclusión permanente de la arteria cerebral media (o en inglés, permanent middle cerebral artery occlusion)

PT: Fototrombosis

RAPG: Receptores acoplados a proteínas G (o en inglés, GPCR: G protein-coupled receptors).

RM: Resonancia magnética

ROS: Especies reactivas de oxígeno (o en inglés, Reactive Oxygen Species)

SNC: Sistema nervioso central

SSS: Scandinavian Stroke Scale

TACI: Infarto completo de la circulación anterior

TOAST: Trial Org-10172 Acute Stroke Treatment

TC: Tomografía axial computarizada

Tpa: Activador de plasminógeno tisular

TNF- α : Factor de necrosis tumoral α

tMCAo: Oclusión transitoria de la arteria cerebral media (o en inglés, Transient middle cerebral artery occlusion)

tBCCAo: Oclusión transitoria bilateral de la arteria carótida común (o en inglés, Transient bilateral common carotid artery occlusion).

UNV: Unidad neurovascular

WT: Variante silvestre o salvaje (o en inglés, Wild Type)

RESUMEN

Objetivo: Describir el estado actual del conocimiento sobre el eje CCL5/CCR5 en el sistema nervioso central, su participación en la regulación de la respuesta neuroinflamatoria en la fisiopatología del ictus y su posible uso como un nuevo enfoque diagnóstico y terapéutico para la intervención clínica de las distintas patologías cerebrovasculares. **Métodos:** Se realizaron búsquedas en las bases de datos de PUBMED y Google Scholar en busca de estudios publicados entre enero de 2000 y abril de 2020. Los estudios fueron elegibles para su inclusión si evaluaban: (a) Los efectos del eje CCL5/CCR5 en la fisiopatología del ictus utilizando modelos animales de isquemia; (b) Asociaciones entre los polimorfismos de los genes CCL5 y CCR5 con el riesgo de desarrollar ictus; o (c) Asociaciones entre los niveles plasmáticos o cerebrales de CCL5 con el incremento del riesgo de desarrollar ictus en pacientes. También se realizaron búsquedas manuales y búsquedas de referencias cruzadas de los artículos evaluados, para identificar estudios adicionales potencialmente elegibles. Los artículos fueron seleccionados para su revisión por título y resumen, de los cuales se extrajeron y analizaron los datos. **Resultados:** La búsqueda identificó 307 referencias, de las cuales 32 artículos cumplieron con los criterios de inclusión. De estos, 13 artículos utilizaron modelos animales de isquemia experimental con ratones o ratas knockout y de tipo salvaje para CCR5 ó CCL5. Un total de 12 artículos evaluaron en pacientes los polimorfismos de frecuencia en los genes CCL5/CCR5. De esos artículos, hubo 6 para CCR5-Δ32, 1 estudio para CCR5 -2459A/G, 3 estudios para CCL5 G-403A, 1 estudio para CCL5 G-403A y CCL5 C-28G simultáneamente y 1 para CCL5 -281C/T (rs2107538). Finalmente, 10 artículos evaluaron los niveles plasmáticos o cerebrales de CCL5 en pacientes con ictus. **Conclusión:** De esta revisión se puede concluir que las diferencias encontradas en la expresión de CCL5 y CCR5 durante las diferentes fases del ictus podrían reflejar el doble papel del eje CCL5/CCR5 en la neuroinflamación y sus posibles efectos perjudiciales o protectores tras un ictus. Sin embargo, se requieren más estudios para comprender completamente los mecanismos moleculares por los cuales las quimioquinas contribuyen a esta enfermedad.

Palabras clave: *Ictus; Isquemia cerebral; Neuroinflammation; CCR5; CCL5; Neuroprotección.*

ABSTRACT

Objective: To describe the state-of-the-art about the CCL5/CCR5 axis in the central nervous system, its role in the neuroinflammatory response regulation in the physiopathology of cerebral ischemia, and its possible use as a new diagnostic and therapeutic approach for the clinical intervention on different cerebrovascular pathologies. **Methods:** A search of the PUBMED and Google Scholar databases was performed for studies published between January 2000 and April 2020. Studies were eligible for inclusion if they evaluated: (a) The effects of the CCL5/CCR5 axis on stroke pathophysiology using animal models of experimental ischemia; (b) Associations between the CCL5 or CCR5 gene polymorphisms with increased risk of ischemic stroke events; or (c) Associations between the plasma or brain levels of CCL5 with increased risk of ischemic stroke in patients. Manual searches and searches of crossed references of assessed articles were also done, to find additional eligible studies. Articles were selected for review by their title and abstract, and data were extracted and analyzed from those studies. **Results:** The search identified 307 references, from which 32 papers met our inclusion criteria. Of these, 13 articles used animal models of experimental ischemia, with knockout and wild-type mice or rats for either CCR5 or CCL5. A total of 12 articles evaluated the frequency polymorphisms in the genes CCL5/CCR5 in patients. Among those articles, there were 6 on CCR5-Δ32, 1 study on CCR5 -2459A/G, 3 studies on CCL5 G-403A, 1 study on CCL5 G-403A and CCL5 C-28G simultaneously, and 1 on CCL5 -281C/T (rs2107538). Finally, 10 articles evaluated the levels of plasma or brain CCL5 in stroke patients. **Conclusion:** From this review, we can conclude that the differences found in the expression of CCL5 and CCR5, during the different phases of stroke, could reflect the dual role of the CCL5/CCR5 axis in neuroinflammation, and their possible detrimental or protective effects after stroke. However, more studies are required to better understand the molecular mechanisms by which chemokines contribute to this disease.

Keywords: *Stroke; Brain Ischemia; Neuroinflammation; CCL5; CCR5; Neuroprotection.*

1. INTRODUCCIÓN

El ictus es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los países desarrollados y en desarrollo, además de ser una de las principales causas de dependencia y discapacidad, es la segunda causa de demencia en el mundo [1,2]. Alrededor del 80% de los casos son isquémicos y aproximadamente el 20% son hemorrágicos como consecuencia de la oclusión de una arteria cerebral o por la ruptura de la arteria respectivamente. La etiología y los mecanismos del ictus no se ha dilucidado completamente a pesar de que diferentes estudios han demostrado que los factores de riesgo no modificables (edad, raza y sexo) y adquiridos (hipertensión, tabaquismo, diabetes y obesidad), son comunes en el 80% de todos los casos de accidente cerebrovascular [3].

Los factores de riesgo cardiovasculares no explican completamente el riesgo general asociado al ictus. Su etiología multifactorial implica una interacción compleja entre una variedad de factores ambientales y genéticos, como es el caso de las variantes polimórficas que afectan los niveles de transcripción de genes reguladores en varias vías fisiológicas, como el metabolismo de los lípidos, la regulación de la presión arterial, la coagulación, la adhesión celular y la respuesta inflamatoria [4].

Las quimioquinas (citoquinas quimiotácticas) y sus receptores son mediadores proinflamatorios clave que actúan como quimioatrayentes y reclutan leucocitos al sitio de la inflamación. Está bien demostrado que las quimioquinas y sus receptores desempeñan un papel crucial en la regulación de las respuestas inflamatorias contra agentes infecciosos o dirigida a la placa aterosclerótica de vasos sanguíneos vulnerables en el infarto cerebral por la disfunción endotelial [4].

Las quimioquinas CCL3, CCL4, CCL5 y CCL8 se unen al receptor de quimioquinas CCR5, que se expresa en varios tipos de células implicadas en la aterogénesis, como los macrófagos, las células T y las células endoteliales coronarias, así como en células del músculo liso vascular, lo que sugiere un posible papel en la respuesta inflamatoria en la enfermedad cardiovascular [4]. Por lo tanto, considerando que la inflamación sistémica es factor contribuyente

en todas las fases del desarrollo y la ruptura de las placas de ateroma vulnerables, la enfermedad arterial isquémica aterooclusiva aumentaría el riesgo de isquemia en otro territorio vascular debido a la liberación de citoquinas [5]

La molécula CCL5/RANTES (quimioquina de regulación por activación expresada y secretada por los linfocitos T normales), también conocida como CC quimioquina ligando-5 (CCL5), es una quimioquina C-C β (68 aa), que actúa como un quimiotransmisor selectivo de monocitos y linfocitos humanos, a través de múltiples receptores potenciales incluyendo CCR1, CCR3, y CCR5 [7]. El CCL5 induce la migración de monocitos, eosinófilos, células T, células NK, mastocitos y basófilos a sitios de inflamación e infección, incluidos los vasos sanguíneos y el corazón. Esta quimioquina se libera de múltiples fuentes, predominantemente células T CD8+, plaquetas, macrófagos, eosinófilos, fibroblastos y monocitos [6].

Se ha demostrado que algunas de las quimioquinas como CCL3/MIP1a, CCL5 y CCL18/PARC se expresan en la placa aterosclerótica, y las células dentro de la placa expresan receptores para CCL5 como: CCR1, CCR3 y CCR5. EL CCR5 el principal receptor en el sistema nervioso central (SNC), donde se expresa en astrocitos, microglía y neuronas [7,8]. La interacción entre CCL5 y su receptor CCR5 además de inducir la quimiotaxis, puede actuar sinérgicamente con factores de riesgo comunes que exacerban la inflamación secundaria en el endotelio vascular. Por lo tanto, el CCR5 puede mediar las comunicaciones celulares durante la isquemia cerebral y otras enfermedades vasculares relacionadas, indicando su posible papel causal en el desarrollo, la progresión y la gravedad de las lesiones vasculares [9].

Los hallazgos anteriores sugieren que el CCL5 y su receptor CCR5 constituyen un mecanismo molecular involucrado en la fisiopatología del ictus. Sin embargo, la evidencia disponible no es del todo concluyente, al eje CCR5/CCL5 se le atribuye una doble función en la respuesta neuroinmunológica: un papel regulador tanto de la respuesta proinflamatoria en la fase aguda del ictus como de la neuroregeneración postisquémica para la recuperación de la lesión cerebral [4,10]. Por ejemplo, la inhibición de la

expresión de CCR5 reduce la agregación de citoquinas proaterogénicas al sitio de la lesión arterial. Sin embargo, la inhibición de la expresión de CCR5 no siempre generaría una respuesta antiinflamatoria, recientemente se ha demostrado que CCR5 facilita el reclutamiento de células progenitoras y promueve la reparación de células endoteliales vasculares [4].

1.1. Clasificación del ictus

El ictus, también denominado accidente cerebrovascular, ataque o derrame cerebral y apoplejía, incluye a todas aquellas patologías que afectan al sistema nervioso central, provocadas por un trastorno de la circulación sanguínea, atribuido a una lesión vascular que induce isquemia, provocando la muerte celular en el tejido ya sea del cerebro, la retina o la médula espinal [11].

El término “ictus” que, en latín, al igual que su correspondiente anglosajón “stroke”, significa “golpe”, se emplea para describir el carácter brusco y la aparición súbita del proceso. Según la naturaleza de la lesión cerebral existen dos tipos principales de ictus, el ictus isquémico o infarto cerebral y el ictus hemorrágico o hemorragia cerebral [12] (Figura 1). Ambos se pueden clasificar en diferentes niveles, según la zona afectada en el cerebro, la extensión, la duración del evento o la etiología subyacente [13] (Figura 2). Variables que a su vez determinarán la severidad del ictus, entre un efecto mínimo y fatal [14].

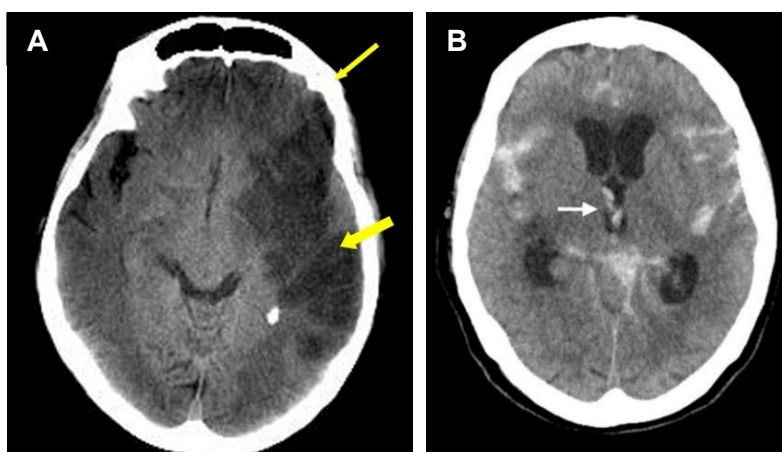


Figura 1. Tomografía axial computarizada cerebral de ictus. A. Imagen hipodensa típica de un infarto afectando más de un territorio (flecha amarilla), en paciente con infarto cerebral establecido. B. Corte cefálico, a nivel del tercer ventrículo, se observa la presencia de sangre intraventricular (flecha blanca) y la dilatación simétrica del sistema ventricular. Indicativa de Hemorragia subaracnoidea grado IV en la escala de Fisher. **Tomado de:** [15,16]

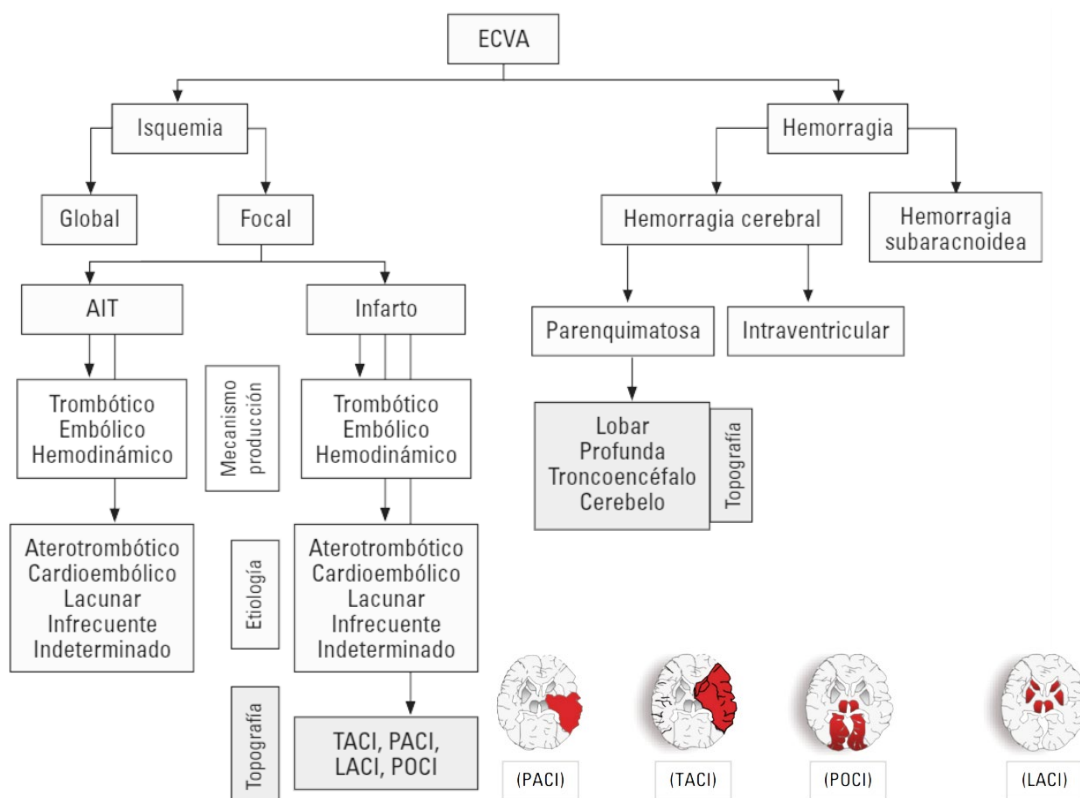


Figura 2. Clasificación de la enfermedad cerebrovascular aguda (ECVA) según su naturaleza. AIT: ataque isquémico transitorio; ECVA: enfermedad cerebrovascular aguda; LACI: infarto lacunar; PACI: infarto parcial de la circulación anterior; POCI: infarto de la circulación posterior; TACI: infarto completo de la circulación anterior. **Adaptado de:** [13,17]

1.1.1 Ictus Isquémico.

El ictus isquémico es mucho más frecuente que el hemorrágico, representa entre el 85% – 90% de todos los casos. Se produce cuando se obstruye una arteria que irriga una zona del cerebro, la médula espinal o la retina, disminuyendo el flujo sanguíneo, lo que provoca un infarto cerebral en un área circunscrita [12]. Los ictus isquémicos pueden estar provocados por el estrechamiento gradual (aterotrombosis) o una oclusión súbita (embolismo) de alguna de las grandes arterias cerebrales. Dependiendo de la duración de los síntomas se subdivide en ataque isquémico transitorio (AIT), cuando desaparecen por completo en un tiempo relativamente corto (<24 horas [h]), o en infarto cerebral (IC) como consecuencia de la isquemia intensa y/o prologada, es decir, de una duración mayor a 24 horas o si se produce una lesión cerebral irreversible localizada, tras haberse quedado sin irrigación sanguínea [14].

Dependiendo de la etiología, el infarto cerebral puede ser clasificado, según los criterios TOAST (Trial Org-10172 Acute Stroke Treatment) en cuatro categorías: Enfermedad de los vasos pequeños, causas aterotrombóticas (Ateroesclerosis), cardioembólicas, síndrome lacunar y otras causas no determinadas [3]. Las categorías más frecuentes son el subtipo cardioembólico producidos por un coagulo en el corazón que se desplaza por el torrente sanguíneo y obstruye una arteria cerebral, y el subtipo aterotrombótico secundario a la oclusión de la vasculatura por la ateroesclerosis o la ruptura de la placa de ateroma que desplaza por el torrente sanguíneo en forma de trombo y obstruye una arteria cerebral [12].

Según los criterios de la clasificación Oxfordshire Community Stroke Project (OCSP) se puede conocer de manera rápida antes de la realización de la neuroimagen la severidad de la afectación clínica mediante la sintomatología. En función de su localización clínica los infartos cerebrales se dividen en: TACI (acrónimo anglosajón para referirse al ictus completo de circulación anterior), PACI (ictus parcial de circulación anterior), LACI (ictus lacunar) y POCI (ictus de circulación posterior) (**Figura 3**).

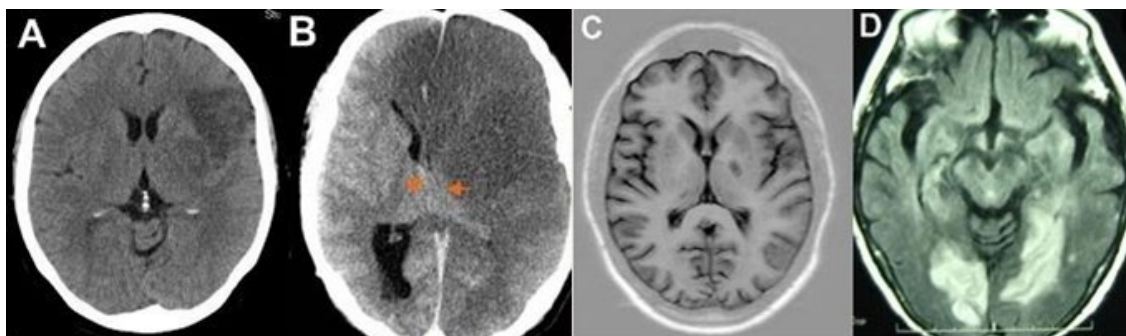


Figura 3. Clasificación topográfica del ictus isquémico según los criterios OCSP. A. Ictus parcial de circulación anterior (PACI); B. ictus completo de circulación anterior (TACI); C. Ictus lacunar (LACI); D. Ictus de circulación posterior (POCI). Fuente: <http://www.neurowikia.es/>

1.1.2 Ictus Hemorrágico.

El ictus hemorrágico se produce cuando un vaso sanguíneo, arterial o venoso cerebral se rompe, lo que produce extravasación de sangre dentro de la cavidad craneal. Se pueden dividir en dos tipos dependiendo de la zona del cerebro donde se localiza la sangre, bien sea a nivel del parénquima o en la superficie cerebral, se denominará hemorragia intracerebral o hemorragia subaracnoidea respectivamente.

Las hemorragias intracerebrales se pueden clasificar en hemorragia intraventricular primaria y hemorragia parenquimatosa, a su vez subdividida en lobar, profunda, troncoencefálica o cerebelosa [14,18,19] (Figura 4).

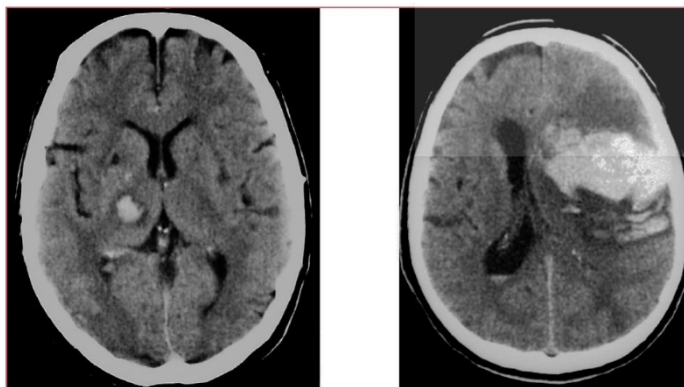


Figura 4. Hemorragia intracerebral. A la izquierda: hemorragia intracerebral profunda (cápsulo-talámica) hipertensiva. A la derecha: hemorragia intracerebral lobar.

Disponible:

<https://www.revespcardiolog.es-ictus-diagnostico-tratamiento-enfermedades-cerebrovasculares-articulo-13108281>

1.2. Epidemiología del ictus

El ictus es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en todo el mundo, tanto el ictus isquémico como el hemorrágico afectan a unas 13.7 millones de personas [2]. Según la OMS representa la tercera causa de muerte en los países desarrollados (detrás de las patologías cardiovasculares y neoplasias) con 5.5 millones de muertes anuales y la primera causa de discapacidad en la población adulta en el mundo con 44 millones de discapacidades físicas al año [12,20].

Actualmente, la incidencia promedio mundial del ictus isquémico según OMS es de 200 casos nuevos por cada 100.000 habitantes/año [21]. La incidencia y prevalencia del ictus isquémico ha evolucionado con el tiempo, así como el incremento de la expectativa de vida. En 2017, la incidencia global acumulada de ictus fue de 11,9 millones (incluyendo todos los tipos de ictus) y la mortalidad asociada fue de 6,2 millones (Figura 5) [22]. A nivel mundial en 2017, el ictus isquémico (IS) constituyó el 65%, la hemorragia intracerebral primaria (HICP) el 26% y la Hemorragia subaracnoidea (HSA) el 9% de todos los eventos cerebrovasculares incidentes [23].

En Europa anualmente se diagnostican más de un millón de casos nuevos y el ictus isquémico representó aproximadamente el 80% de los casos incidentes [24]. Actualmente se estima que al menos 9 millones de personas han sobrevivido al ictus y entre 400.000 - 650.000 mueren por esta causa cada año,

representando el 8% del total de defunciones [25]. En Europa en el 2017, al menos 1,5 millones de personas fueron diagnosticadas con esta condición y 438.000 murieron por esta causa [25], y, de ellos, 40.000 son españoles [26].

En Europa, varios estudios han reportado un comportamiento epidemiológico variable sobre la incidencia del ictus de acuerdo con la edad y el sexo de la población [27]. Por ejemplo, la tasa de incidencia de ictus en Francia no difiere según el sexo en poblaciones con edades comprendidas entre 18 y 55 años [28]. Por el contrario, en España, la incidencia fue mayor entre los hombres con edades comprendidas entre 18 y 54 años [29].

En España, se estima que el 21% de las personas mayores de 60 años presentan un alto riesgo de sufrir un ictus en los próximos diez años y en los próximos quince años, el envejecimiento de la población motivará un incremento del 30% en el número de casos nuevos [25]. En España según datos del estudio IBERICTUS la incidencia fue mayor entre hombres de 18 a 54 años [29].

En España, el ictus causa una de cada diez muertes, siendo la segunda causa de mortalidad en el varón y la primera en la mujer por enfermedades específicas [30]. Se han contado hasta 16.000 muertes al año por esta causa, lo que representa más del doble de casos que el cáncer de mama y hasta 14 veces más que por accidentes de tráfico, mientras que en el hombre permanece aún por detrás de las enfermedades coronarias [26]. Además, se considera la segunda causa de demencia después del Alzheimer y constituye el primer motivo de incapacidad en la población adulta [31]. De acuerdo con el estudio IBERICTUS, la incidencia global anual ajustada para todos los tipos de ictus fue de 187 casos por 100.000 habitantes/año. El ictus es ligeramente superior en hombres (202 por 100.000 habitantes/año) que en mujeres (187 por 100.000 habitantes/año) [29].

Actualmente, de acuerdo con diferentes estudios realizados en España la incidencia global estimada oscila entre 120 y 350 casos por 100.000 habitantes/año [21]. Estas cifras suponen que la prevalencia global para el ictus oscila entre 500 – 600 casos por 100.000 habitantes y su tasa de mortalidad corresponde a 97,7 por cada 100.000 habitantes/año, lo que indica que

anualmente se presentan alrededor de 84.000 casos nuevos y mueren unas 30.000 personas [30].

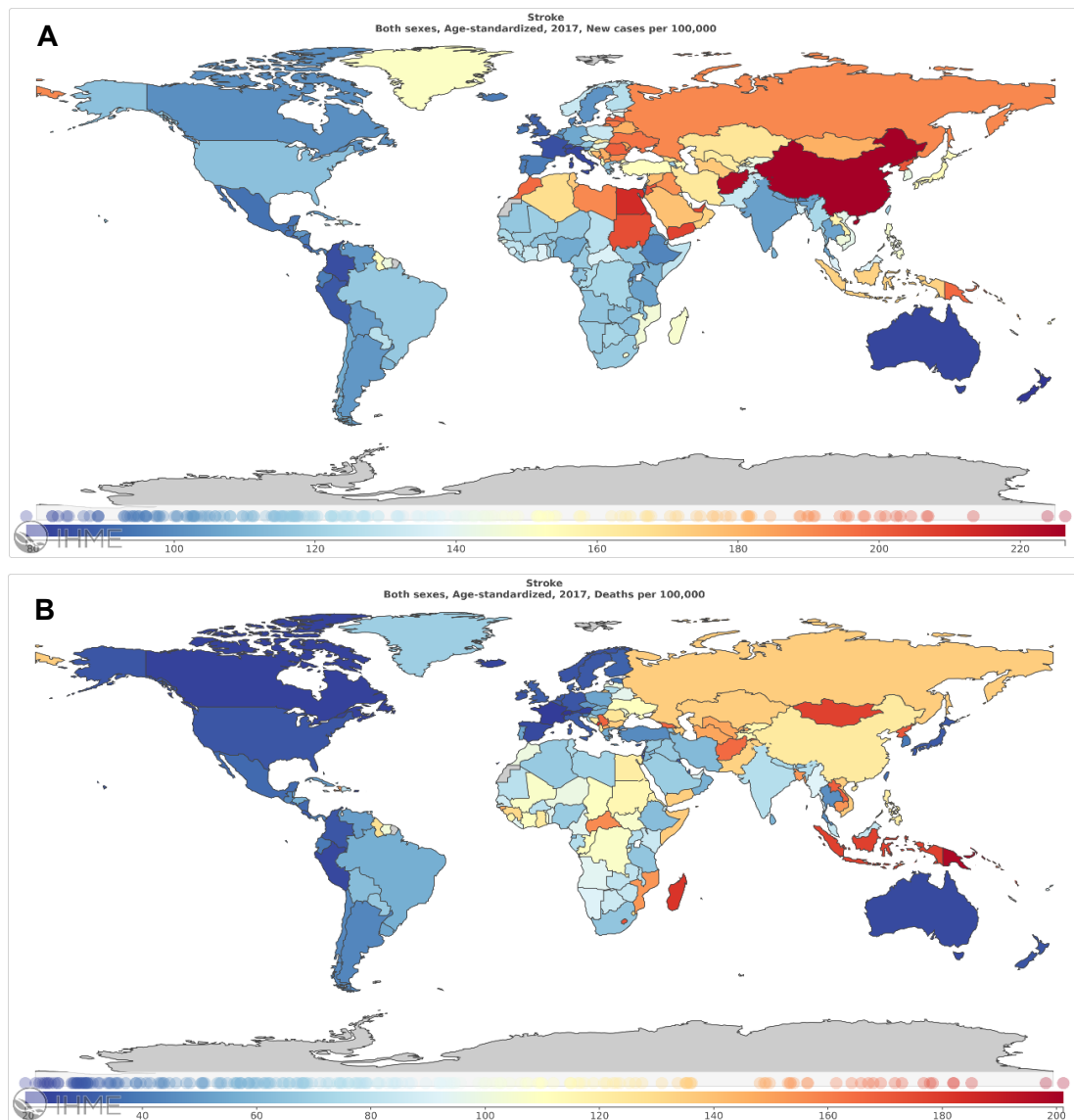


Figura 5. Tasa global de Incidencia (A) y mortalidad (B) por ictus ajustada por edad por 100.000 habitantes/año en 2017 (Ambos sexos, todas las edades).

Tomado de: Global Burden of Disease (GBD) 2017 study [22]. **Disponible en:** <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>

1.3. Diagnóstico del ictus

El cuadro clínico del ictus implica la aparición súbita de un déficit clínico focal, relacionado con un sitio específico en el SNC. Los síntomas pueden incluir hemiparesia (disminución de la fuerza motora o parálisis parcial), hemianestesia (entumecimiento en un lado del cuerpo), afasia (trastorno del

lenguaje), hemianopsia homónima (pérdida de la misma mitad del campo visual en cada ojo) y heminegligencia visuo-espacial [12].

El diagnóstico clínico del ictus requiere en primer lugar distinguir entre la isquemia de la hemorragia y una comprensión del mecanismo específico del evento cerebrovascular. Además, diferenciar entre el ictus y patologías comunes que pueden simular su cuadro clínico (simuladores o mimics), como migraña, convulsiones, trastornos vestibulares, trastornos metabólicos y trastornos funcionales [12].

El protocolo diagnóstico del ictus se fundamenta en la anamnesis, la exploración neurológica, los resultados de las pruebas de laboratorio clínico, la valoración cardíaca mediante electrocardiograma y ecografía transtorácica, exploración de los vasos sanguíneos mediante ecografía doppler-dúplex y angiografía por tomografía computarizada (angio-TC) y pruebas de neuroimagen, bien sea por tomografía axial computarizada (TC craneal) o resonancia magnética (RM craneal), para estudiar el flujo de sangre que pasa a través de las arterias y venas, y descartar la hemorragia microvascular [12,19].

A pesar de los avances y la disponibilidad de ayudas diagnósticas en al menos el 35% de los casos, la causa del accidente cerebrovascular isquémico permanece indeterminada, lo que dificulta la orientación de las estrategias terapéuticas para la prevención adecuada del accidente cerebrovascular recurrente en los pacientes [12].

1.4. Pronóstico clínico y desenlaces del ictus

El pronóstico de los pacientes con ictus es muy heterogéneo, no solo con respecto a los mecanismos fisiopatológicos de los distintos subtipos, sino también con el pronóstico y la discapacidad posterior al ictus. Incluso existe una gran variabilidad interindividual en pacientes con ictus de características clínicas similares. Algunos individuos alcanzan la recuperación total mientras que otros quedan con discapacidad severa persistente, debido a todas las circunstancias que pueden ocurrir a lo largo de la historia natural (antes, durante y después) del ictus. Estas incluyen la gravedad, el grado de funcionalidad previa, así como de la enfermedad asociada [32,33].

A nivel mundial el ictus constituye la primera causa de invalidez permanente en adultos. Se estima que el 90% de los pacientes quedan con secuelas y el 30% es incapaz de realizar las actividades de la vida diaria de forma independiente y necesitan de un cuidador, y el 20% no es capaz de caminar de forma independiente [32,33].

1.4.1. Escalas para la valoración pronóstica del ictus

En el caso de la valoración del pronóstico del estado de los pacientes con ictus, se emplean escalas que evalúan cuantitativamente de forma fiable y precisa, la gravedad del cuadro clínico, su progresión y desenlace. Inicialmente las escalas se desarrollaron para estandarizar la valoración neurológica en la evaluación de la efectividad de cualquier tratamiento en los ensayos clínicos. Sin embargo, también son útiles en el entorno clínico de rutina como ayuda para mejorar la precisión del diagnóstico, ayudar a determinar la idoneidad de tratamientos específicos, controlar el cambio en las deficiencias neurológicas de un paciente a través de la atención continua, predecir y medir los resultados, y definir cómo es la vida del individuo durante y después del tratamiento [34].

Actualmente, hay dos tipos de escalas disponibles, las de valoración neurológica evalúan el deterioro cognitivo y físico actual, y las funcionales que evalúan todo el espectro de resultados derivados de un ictus desde el nivel de deficiencia hasta el de minusvalía [34]. Las escalas de valoración neurológica permiten cuantificar de forma bastante fiable la gravedad del ictus, su progresión y desenlace [33].

Las escalas empleadas con mayor frecuencia son la escala del Instituto Norteamericano de Salud (NIHSS), la escala neurológica escandinava de ictus (SSS: Scandinavian Stroke Scale), la escala canadiense (CNS: Canadian Neurological Scale) y la escala europea (ESS: European Stroke Scale) [34] (Tabla 1). La NIHSS es la escala más empleada para la valoración de funciones neurológicas básicas en la fase aguda del ictus isquémico, tanto al inicio como durante su evolución. Además, predice la respuesta al tratamiento trombolítico, y según la puntuación, que estima la gravedad del ictus, se recomienda o no la administración del tratamiento [33].

Tabla 1. Las escalas de valoración neurológica para cuantificar la gravedad del ictus, progresión y desenlace.

| Escala | ítems | Puntuación | Tiempo |
|--------|--|---|----------|
| NIHSS | Nivel de conciencia | Total: 0 – 42 puntos 0: No síntomas 1-4: leve 5-15: moderado 16-20: moderado-severo 21-42: severo | < 8 min |
| | Visión | | |
| | Función motora facial, superior e inferior | | |
| | Ataxia extremidades | | |
| | Función sensorial | | |
| | Lenguaje (afasia/disartria) | | |
| | Extinción/inatención | | |
| CNS | Nivel de conciencia | Total: 0 – 11,5 puntos 0: coma 1-4: severo 5-7: moderado ≥ 8: leve | 5-10 min |
| | Orientación | | |
| | Lenguaje | | |
| | Función motora facial, superior e inferior | | |
| SSS | Conciencia | Total: 0-58 puntos 0-25: severo 26-42: moderado 43-58: leve | 15 min |
| | Movimiento ocular | | |
| | Fuerza motora superior e inferior | | |
| | Orientación | | |
| | Lenguaje | | |
| | Parálisis facial | | |
| | Marcha | | |
| ESS* | Nivel de conciencia | Total: 0-100 puntos Mayor puntuación, mayor severidad | 8 min |
| | Lenguaje y comprensión | | |
| | Visión | | |
| | Función motora facial, superior e inferior | | |
| | Marcha | | |

CNS: Canadian Neurological Scale; **ESS:** European Stroke Scale; **NIHSS:** National Institutes of Health Stroke Scale; **SSS:** Scandinavian Stroke Scale. * Escala validada únicamente para ictus con afectación del territorio de la arteria cerebral media (ACM). Modificado de: García-Berrocó et al.

La evaluación precisa y adecuada de las actividades para la vida diaria en los pacientes que han sufrido un evento cerebrovascular es muy importante para medir los resultados del tratamiento y una atención sanitaria de calidad. La escala de Rankin y el índice de Barthel se emplean para medir las limitaciones relacionadas con actividades básicas de la vida diaria (ABVD), y la calidad de vida durante la rehabilitación del accidente cerebrovascular [33,35].

La escala de Rankin modificada es la escala de valoración global más utilizada, sobre todo para valorar el grado de dependencia con el que ha quedado afectado el paciente después de experimentar un ictus. Consiste en evaluar la habilidad de los sujetos para realizar actividades ya aprendidas

previamente y la necesidad de ayuda por parte de otra persona para realizar dichas actividades [33].

El Índice de Barthel es la escala de valoración de la capacidad funcional más empleada. Se basa en la valoración de la capacidad de una persona para realizar de forma independiente o dependiente de distintos tipos de ABVD (comer, higiene personal, uso del baño, vestirse, control de esfínteres, deambulación, transferencias, subir y bajar escaleras). Es importante resaltar que, tras tener un ictus, se recomienda esperar de 3 a 6 meses para determinar de forma real el grado de minusvalía o discapacidad [34,35].

1.5. Biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico del ictus

Como se mencionó en las secciones anteriores existe una evidente variabilidad interindividual en los desenlaces del ictus. A pesar de conocer algunos de los factores de riesgo clínico y sociales asociados con el pronóstico para discapacidad y mortalidad en el paciente con ictus, actualmente los modelos de predicción basados en variables clínicas empleados no explican completamente la variabilidad observada en los resultados del ictus, ni han sido ampliamente aceptados para su aplicación en el contexto clínico.

Por lo tanto, al no disponer en la práctica clínica de herramientas que permitan una respuesta anticipada y predecir cómo evolucionará cada paciente, se abre la posibilidad de un nuevo enfoque en la búsqueda de biomarcadores o determinantes adicionales aún no identificados. Estos biomarcadores podrían jugar un papel importante en la fisiopatología de la enfermedad, en la búsqueda de nuevos objetivos moleculares para tratamientos y prevención secundaria, y para identificar aquellos biomarcadores útiles en un entorno clínico. Estos podrían llevar a una mejor predicción pronóstica individual o al manejo personalizado del paciente mediante la estratificación de subgrupos en función de su potencial respuesta a distintos tratamientos, estrategias de prevención y/o rehabilitación secundaria.

En el ámbito clínico del ictus las moléculas liberadas al torrente sanguíneo durante la reacción neuroinflamatoria suponen una oportunidad para el estudio de biomarcadores en relación con los factores que modulan la respuesta a la lesión cerebral isquémica, la plasticidad cerebral y el pronóstico de la

recuperación o el riesgo de eventos vasculares recurrentes y la mortalidad asociada [36–38].

El estudio de biomarcadores detectables en fluidos biológicos para el diagnóstico y la predicción del pronóstico neurológico, funcional y vital, se han desarrollado con diferentes moléculas que actúan en diferentes puntos de las vías biológicas subyacentes a los mecanismos de la enfermedad. Los ejemplos de biomarcadores circulantes asociados la evolución clínica del ictus son copeptina, péptido natriurético cerebral, proteína C reactiva (CRP), fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas y moléculas secretadas por el endotelio como óxido nítrico (NO) y adrenomedulina (AM) [36–38].

En la estratificación por subtipos etiológicos del ictus isquémico y como predictores del ictus se han estudiado aquellos relacionados con el sistema de la coagulación, fibrinólisis, inflamación sistémica y daño endotelial. Estas incluyen, D-dímero, fibrina soluble (FS), metaloproteinasa-9 (MMP-9), péptido natriurético de tipo B (BNP), caspasa-3, S100B, receptor soluble de productos finales de glicación avanzada (sRAGE), la quimerina y la secretagogina, TNF α , la IL-6, la IL-1 β , las selectinas y las moléculas de adhesión. En el ictus hemorrágico se ha estudiado la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) y la proteína S100 de unión a calcio B (S100B) [36,39].

1.6. Tratamiento del ictus

En función del tipo de ictus existen diferentes formas de abordar el tratamiento. En el caso del ictus isquémico, las estrategias para el tratamiento en un primer momento están orientadas en gran medida a la restauración del flujo sanguíneo, para salvar la zona de la peri-infarto (edema) minimizando el daño cerebral, las consecuencias neurológicas y funcionales asociadas provocado por la oclusión vascular. La recanalización farmacológica mediante la administración en las primeras 3 - 4,5 horas del activador de plasminógeno tisular (tPA) ha sido el pilar del manejo terapéutico durante los últimos 20 años [8]. Aunque varios estudios han demostrado que la trombectomía mecánica también es efectiva en el tratamiento de ictus graves provocados por la oclusión de una de las principales arterias del cerebro [40]. El corto período de

tiempo para una intervención segura sigue siendo una variable determinante en la eficacia de la intervención [8,41].

En segunda instancia el objetivo del tratamiento una vez el paciente está hospitalizado, es evitar que vuelva a tener un ictus. Con lo que se administra un tratamiento preventivo ajustado a la etiología, que consiste en un protocolo de control de la presión arterial y de los niveles de glucosa, y la administración de fármacos antiagregantes que limitan la actividad plaquetaria o fármacos anticoagulantes, pues reducen el riesgo de repetición de un nuevo evento en más del 25% [42].

En los ictus hemorrágicos, si la hemorragia es subaracnoidea o está cerca de la superficie del cerebro y es secundaria a malformaciones vasculares, en primera instancia se debe identificar el tipo de malformación vascular (aneurismas o malformaciones arterio-venosas) y realizar una intervención quirúrgica para evacuar la sangre o excluir de la circulación la malformación vascular o la pared del vaso lesionado, con lo que se evita que pueda volver a sangrar y también reparar el vaso sanguíneo dañado mediante angiografía [19].

1.7. Fisiopatología del ictus

El mecanismo común en los distintitos tipos de ictus consiste en la disminución del flujo sanguíneo en la zona afectada del cerebro hasta unos niveles insuficientes para mantener el aporte de oxígeno y nutrientes que requiere el funcionamiento metabólico normal de las células cerebrales [20]. Cuando esto ocurre, ya sea por ruptura u oclusión debido a un coágulo o ateroma, se produce necrosis tisular y muerte neuronal, disrupción de la barrera hematoencefálica (BBB) e infiltración de leucocitos, que promueven la inflamación del tejido cerebral mediante la producción exacerbada de citoquinas y quimioquinas [43].

Actualmente el abordaje de la isquemia se hace desde una perspectiva más global del cerebro, que va más allá de los eventos bioquímicos asociados al daño neuronal e incluye la dinámica comunicación bidireccional entre la microvasculatura y las neuronas, que ocurre tanto en condiciones fisiológicas como en el ictus [43].

Los procesos secundarios a la isquemia/reperfusión después del ictus, afectan la viabilidad de todas las células del cerebro y de la microvasculatura cerebral. Todas las células en cada compartimento participan en la activación de diferentes cascadas de señalización por la falta de suministro energético.

1.7.1. Barrera hematoencefálica (BBB)

Las barreras neuronales especializadas son estructuras endoteliales que separan la sangre de los tejidos neurales. Estas estructuras contribuyen a mantener con precisión un ambiente extracelular altamente equilibrado para el correcto funcionamiento de las sinapsis y circuitos neuronales necesarios para la remodelación, angiogénesis y neurogénesis [44].

Este aspecto homeostático de la microcirculación cerebral en conjunto con los astrocitos y demás componentes celulares de la unidad neurovascular (UNV) conforman la BBB. La UNV es indispensable funcional y morfológicamente para mantener la composición química y celular del "medio" neuronal, y la mantener la barrera anatómica, bioquímica e inmune [44].

La BBB se encuentra en más del 99% de los capilares cerebrales, es una barrera de difusión altamente selectiva, reguladora de la permeabilidad paracelular de sustancias solubles, restringiendo el intercambio de iones como Na^+ , K^+ y Ca^{2+} , moléculas, compuestos neurotóxicos y células entre el parénquima cerebral y la circulación periférica [44].

Otros componentes celulares que apoyan en forma secundaria a la BBB y mantienen la integridad cerebrovascular, son las células de soporte suprayacente a lo largo de los vasos que ayudan a regular el tono vascular (pericitos y células musculares lisas vasculares), los astrocitos perivasculares cuyas prolongaciones forman pies terminales que cubren la mayor parte de la vasculatura, la lámina basal de la pared capilar y la microglía [45].

1.7.2. Unidad neurovascular (UNV)

El término unidad neurovascular (UNV) hace referencia a la estrecha conexión física y funcional entre el tejido cerebral y los vasos sanguíneos. La UNV es importante para regular la comunicación bidireccional y estabilizar el microambiente cerebral, tanto en condiciones normales como en el ictus,

manteniendo la integridad funcional de la BBB y regulando el volumen del flujo sanguíneo cerebral (CBF) [46,47].

La UNV está constituida por la microvasculatura (compuesta por células endoteliales, lamina basal), los astrocitos, las neuronas con sus axones, moduladas por pericitos, microglía y oligodendrocitos [47] (Figura 6). La composición celular de la NVU es anatómicamente distinta a largo del árbol vascular, consiste en una capa de células musculares lisas vasculares, que envuelve los vasos en los niveles de arterias y arteriolas, pericitos a lo largo de los capilares y células musculares lisas "estrelladas" a lo largo de las vénulas [46].

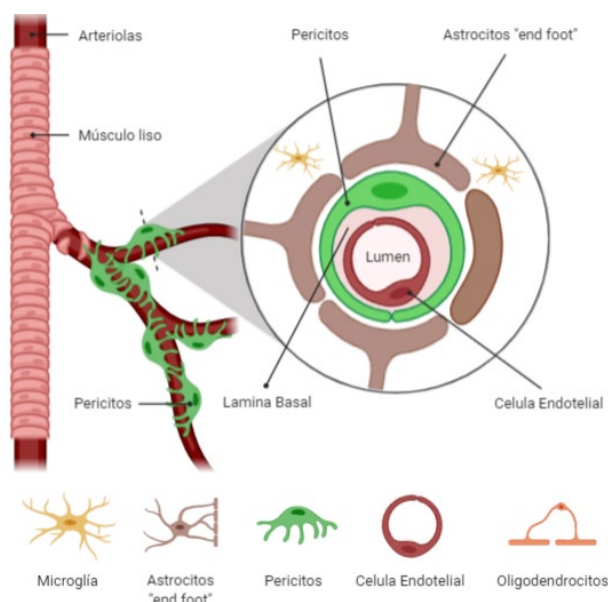


Figura 6. Representación esquemática en sección transversal de un capilar cerebral de la unidad neurovascular (UNV). La UNV está compuesta por La interrelación de microvasos, astrocitos, neuronas y células de soporte incluyendo microglía y oligodendrocitos.

Fuente: [BioRender.com](https://www.biorender.com)

El árbol cerebrovascular se origina en grandes arterias interconectadas que forman el círculo de Willis en la base del cerebro. Estas arterias se dividen secuencialmente y una vez dentro del parénquima cerebral, originan arterias piales, arterias intracerebrales penetrantes, arteriolas y una amplia red capilar. Los capilares cerebrales están formados por una capa de células endoteliales que delimitan el lumen del capilar [48]. Las células vasculares y perivasculares cerebrales responden en estadios iniciales de la isquemia, mediante la liberación de citoquinas y posteriormente expresan moléculas de adhesión [49].

1.7.2.1. Pericitos

Los pericitos son células pluripotentes y contráctiles, que cubren la superficie abluminal de los capilares, regulan el flujo sanguíneo controlando el diámetro de los capilares y eliminan las proteínas tóxicas para mantener la estabilidad del SNC [47]. Además, los pericitos desempeñan un papel clave en la formación de uniones estrechas e inducción la polarización de las prolongaciones de los astrocitos, importante para la comunicación neurovascular e intercelular y en la permeabilidad endotelial [50].

Se ha demostrado que los pericitos migran desde la sangre periférica o el ambiente local, hacia la zona peri-ictus, rodeando los microvasos cerebrales del tejido necrótico, en respuesta rápida a la hipoxia y a la lesión cerebral traumática. Ambas condiciones están asociadas con una mayor permeabilidad BBB. Después de la isquemia, se produce una sobreexpresión de genes relacionados con factores angiogénicos y factores de crecimiento, que contribuyen a la reparación del tejido celular dañado, mediante el control de la angiogénesis, la neurogénesis y la integridad de la BBB [45] (Figura 7).

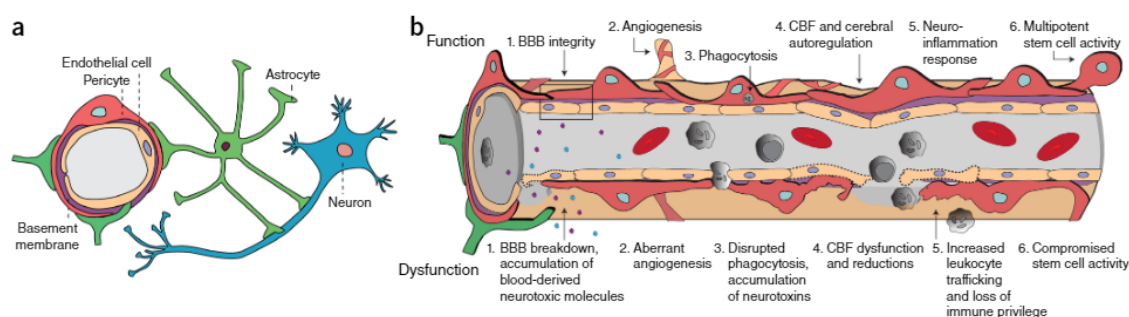


Figura 7. El papel multifuncional de los pericitos del SNC en la NVU. a) Diagrama de NVU simplificado que muestra la red celular interactiva a nivel de capilares cerebrales que comprende células vasculares, células gliales y neuronas. (b) En condiciones fisiológicas (fila superior), los pericitos regulan: (1) la integridad del BBB; (2) angiogénesis; (3) fagocitosis; (4) CBF y diámetro capilar; (5) neuroinflamación; (6) actividad de células madre multipotentes. La disfunción del pericito (fila inferior) se caracteriza por (1) descomposición de la BBB; (2) angiogénesis aberrante; (3) fagocitosis; (4) disfunción del CBF y obstrucción capilar isquémica; (5) aumento de la infiltración de leucocitos; (6) alteración de la capacidad de las células madre para diferenciarse en células neuronales y hematopoyéticas. **Tomado de:** [51]

1.7.2.2. Astrocitos

Los astrocitos representan la mayor población de células gliales en el SNC, siendo incluso más abundantes que las neuronas. Estas células se encargan de proveer soporte metabólico a la neurona y de controlar la permeabilidad de la BBB. Se comunican con las células endoteliales del UNV a través de sus

prolongaciones o pies terminales, combinando la actividad neuronal con los vasos sanguíneos, en un proceso denominado acoplamiento neurovascular [45,47]. Los pies terminales de los astrocitos se colocan alrededor de los pericitos que rodean los capilares corticales, y con la estimulación aferente de las neuronas, hay un aumento en el calcio intracelular, mediado por neurotransmisores y sustancias vasoactivas, que regulan la actividad metabólica y los requisitos de flujo sanguíneo [52] (Figura 8).

Los astrocitos cumplen un papel estructural y funcional junto con los pericitos y las células endoteliales. La interacción del astrocito con la célula endotelial es esencial en la regulación del contenido de agua en el cerebro y el equilibrio electrolítico en condiciones normales y patológicas. En el contexto de la inflamación e hipoxia, participan en el proceso de reparación y cicatrización del cerebro [18].

Durante la isquemia los astrocitos sobreexpresan factores glucolíticos y angiogénicos. Además, su mal funcionamiento puede alterar la integridad de la BBB, modificando el volumen de agua a través de los canales de acuaporinas que expresan en la membrana, formando el edema que se observa después de un episodio isquémico [53].

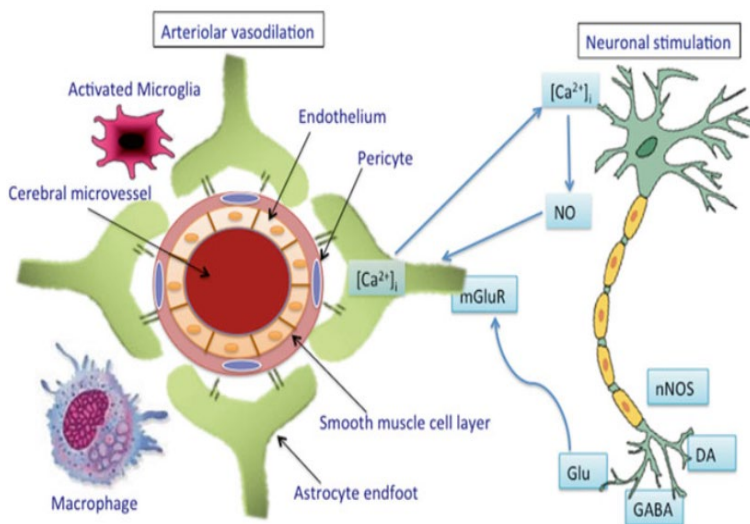


Figura 8. Acoplamiento neurovascular. A) La diafonía entre los astrocitos y las neuronas desempeña un papel crucial en la mediación del acoplamiento neurovascular y el aumento de la vasodilatación de las arteriolas envainadas por los procesos de los pies de los astrocitos. B) después del ictus, en el área de afectada se activa la microglía y se reclutan los macrófagos, lo que induce varias reacciones inflamatorias. Esto puede conducir a una lesión microvascular. Sin embargo, también envuelven la sangre y los tejidos dañados o muertos, proporcionando un entorno para la reparación de tejidos. Tomado de: [52]

1.7.2.3. Neuronas

La neurona es la unidad básica estructural y funcional del sistema nervioso. Son células especializadas en la transmisión del impulso nervioso, a través de las sinapsis [54]. El contenido de las neuronas difiere en relación con el medio

extracelular, la mayor diferencia se encuentra en la concentración de iones Na^+ y K^+ . En el exterior de la célula el Na^+ es diez veces más abundante que en el interior, en cambio en el interior, el K^+ es diez veces más abundante [55]. Las neuronas reciben información a través de mediadores solubles como neurotransmisores, neuropéptidos y neuromoduladores que, a su vez, pueden reducir o incrementar cualquier respuesta inflamatoria y mantener la microglía en estado quiescente o de reposo [47].

Las neuronas son más vulnerables que la glía y las células vasculares, y cuando sufren hipoxia - isquemia se convierten rápidamente en disfuncionales y mueren por necrosis [50,56].

1.7.2.4. *Lamina basal*

Además de los astrocitos, los pericitos y las neuronas, la matriz extracelular de la lámina basal también interactúa con el endotelio microvascular cerebral, recubriendo la superficie abluminal de los vasos sanguíneos, las células endoteliales y los pericitos. Está compuesta por proteínas estructurales, como colágeno tipo IV, laminina, fibronectina, elastina y varios proteoglicanos [50,56] (Figura 9). La lamina basal cumple diversas funciones, proporciona un andamio en el que interactúan los compartimentos endotelial y glial, a través de la interacción de laminina y otras proteínas de la matriz con receptores de integrina de la superficie del endotelio vascular [49]. La integridad de la microvasculatura depende de la proximidad de los pies de los astrocitos al endotelio: ambos son necesarios para la formación de la matriz de lámina basal y las barreras de permeabilidad [56].

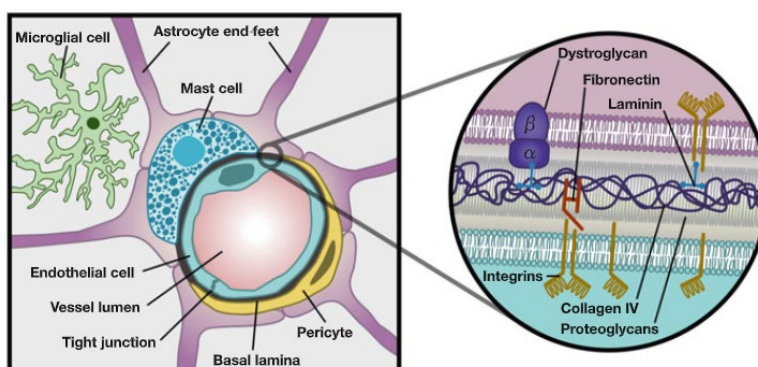


Figura 9. Ilustración de los componentes de la lámina basal en la NVU. Está compuesta por proteínas estructurales, como colágeno tipo IV, laminina, fibronectina, elastina y varios proteoglicanos.

Tomado de: [52]

Después del ictus, los componentes de la matriz son susceptibles a la degradación enzimática, mediante la expresión regulada de metaloproteinasas de la matriz (MMPs) [56]. Las MMPs están involucradas en la remodelación de la matriz extracelular, degradando proteínas extracelulares, como el colágeno tipo IV, laminina, fibronectina y perlecán, incrementando la permeabilidad de la BBB y facilitando la infiltración de células inmunes desde la periferia hacia la zona afectada del cerebro [45,57]. En el cerebro uno de los mayores productores de MMPs después de la isquemia, especialmente de MMP - 3 y MMP - 9, es la microglía y los neutrófilos infiltrantes respectivamente [8,53].

Las consecuencias de la expresión y activación de las MMPs después del ictus son la disrupción de la BBB, seguido de una hemorragia y edema. En concreto, la MMP – 9 se asocia con la disrupción de la BBB, al interrumpir la conexión entre los pies de los astrocitos y las células endoteliales [56]. Por el contrario, MMP–2 está directamente relacionada con la aparición de lesión neuronal dentro de las regiones centrales isquémicas [8,50]. La disrupción de la microvasculatura también se puede apreciar por la presencia de pericitos ubicados dentro de la matriz, o histiocitos de la pared de los vasos dentro de los vasos más grandes [58].

1.7.3. Células endoteliales

El soporte anatómico de la BBB es una monocapa de células del endotelio microvascular cerebral de la UNV [46]. El endotelio de los capilares cerebrales que forman la BBB se caracteriza porque cada borde celular está íntimamente unido a la célula adyacente, conectadas por uniones estrechas (por ejemplo, claudinas, ocludina, zonula occludens) y uniones adherentes (por ejemplo, cadherina vascular endotelial (VE), molécula de adhesión de células endoteliales de plaquetas o PECAM-1, conexinas) [46,47] (Figura 10). Adicionalmente, las células endoteliales de los capilares cerebrales que forman la BBB, se diferencian del resto, porque contienen una mayor cantidad de mitocondrias, menor actividad pinocítica y no tienen fenestraciones [59].

Por tanto, la permeabilidad paracelular entre las células endoteliales del BBB está determinada por las interacciones de la microvasculatura con los astrocitos y por el complejo de uniones estrechas, mientras que las uniones adherentes desempeñan un papel clave en los contactos de célula a célula y promueven la maduración celular [47].

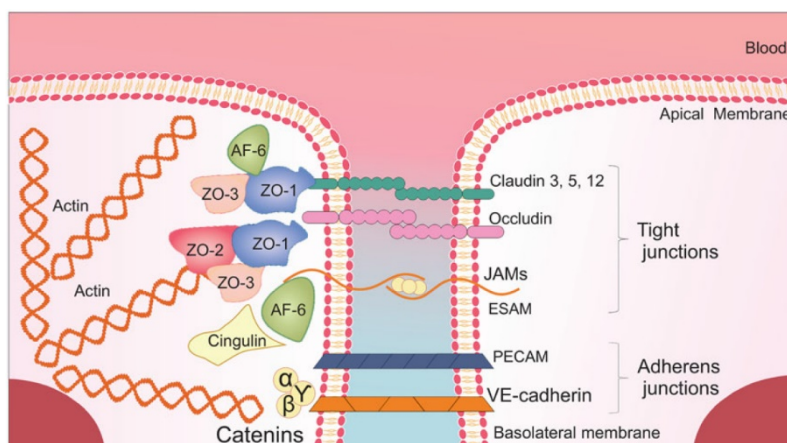


Figura 10. Uniones estrechas endoteliales. La unión apretada es un complejo de proteínas transmembrana compuesto por claudinas, ocludina y moléculas de adhesión (JAM) asociadas en contactos intercelulares e interacciones con proteínas citoplasmáticas zonula occludens (ZO) -1, -2 y -3 y cingulina al citoesqueleto de actina. **Tomado de:** [60].

Actualmente se sabe que las células endoteliales producen factores tróficos y vasoactivos, que son un control extremadamente importante del tono vascular, algunos vasodilatador como el óxido nítrico y un inhibidor de la agregación plaquetaria y la adhesión leucocitaria, pero también vasoconstrictores como la endotelina y el tromboxano [45]. En el paciente con ictus, el estrés oxidativo se considera uno de los factores fundamentales en el daño cerebral por isquemia/reperfusión. En las células endoteliales, el estrés oxidativo reduce la disponibilidad de óxido nítrico, exacerbando el daño por isquemia, debido a la reducción del flujo sanguíneo en la zona afectada [8].

1.7.3.1. Oligodendrocitos

Los oligodendrocitos son el principal tipo de célula en la sustancia blanca. Estas células poseen una membrana rica en lípidos llamada mielina para envolver los axones para una conducción eficiente de los impulsos eléctricos [54,61]. En el desarrollo, los oligodendrocitos formadores de mielina son generados por células subventriculares que dan lugar a células precursoras de oligodendrocitos (OPC). En particular, los OPC adultos son abundantes en las áreas de materia gris y blanca, y comprenden del 5 al 8% de todas las células del cerebro adulto [48].

Las células endoteliales cerebrales y las OPC pueden proporcionar un nicho oligovascular en el que los factores de crecimiento derivados del endotelio pueden contribuir a la angiogénesis y oligodendrogénesis en curso en la sustancia blanca adulta, particularmente después de una lesión cerebral [54]. Durante la fase crónica después de la lesión de la sustancia blanca, la MMP-9 de los oligodendrocitos puede promover la remodelación vascular [48].

Las interacciones oligodendrocitos-neurona son importantes para la mielinización de los axones, pueden servir como un principal proveedor metabólico de lactato, que es integral para el soporte de energía axonal, a través del transportador de monocarboxilato (MCT)-1 [48]. Además, los factores tróficos derivados de oligodendrocitos, como el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) -1 y el factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF), promueven la supervivencia de las neuronas y el crecimiento de los axones [61].

La isquemia cerebral causa desmielinización irreversible, lo que contribuye significativamente a la disfunción sensoriomotora y cognitiva a largo plazo [48]. Después de la desmielinización secundaria a un evento isquémico, los oligodendrocitos reparan y restauran la vaina de mielina alrededor de los axones. El proceso de remielinización, se basa en la proliferación y maduración de las células progenitoras de oligodendrocitos para convertirse en oligodendrocitos funcionales, que producen la vaina de mielina [48,61].

1.7.4. Respuesta neuroinflamatoria celular durante el ictus

La muerte celular neuronal después del evento cerebrovascular no es un proceso aislado, es multifactorial y compleja, y comprende varios componentes que contribuyen a la citotoxicidad, el estrés oxidativo y nitrosativo, la disfunción mitocondrial y la neuroinflamación [62].

La neuroinflamación por el daño tisular y la necrosis celular involucra un proceso complejo que está regulada tanto negativa como positivamente por los diferentes tipos de células cerebrales y también por los elementos vasculares, que conforman la UNV. Además, la liberación de prostaglandinas, quimioquinas, citoquinas, proteasas extracelulares y radicales libres que inducen el reclutamiento y activación de células inflamatorias [20]. El estrés

oxidativo y los mediadores de la inflamación afectan a todos los componentes de la UNV, debido al colapso de la BBB y permiten la extravasación de proteínas y células sanguíneas [63] (Figura 11).

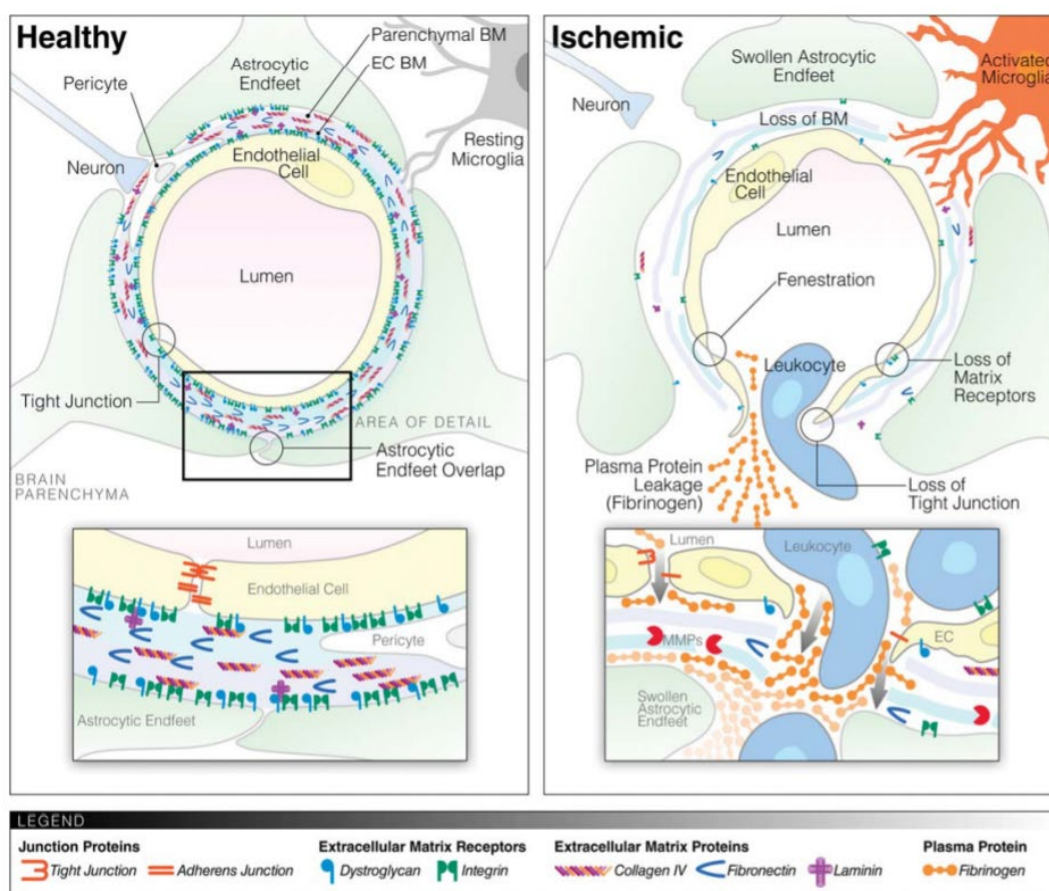


Figura 11. Representación esquemática de la estructura BBB antes y después del ictus. Después del ictus desaparecen las características endoteliales especializadas, uniones estrechas y aparecen fenestraciones. Se degradan los componentes de la lámina basal. Hay extravasación de líquido, proteínas y células hacia el lumen vascular. La microglía se activa y puede extender los procesos hacia los vasos sanguíneos, mientras que los pericitos se alejan y hay infiltrado de los glóbulos blancos. Tomado de: [63].

Durante la neuroinflamación inmediatamente después de la lesión inicial, las primeras células que reaccionan a la lesión isquémica son las células de la microglía y los astrocitos. Estas células producen varios factores antiinflamatorios y quimioquinas que favorecen la infiltración de las células inmunes. Después de la lesión inicial los macrófagos, linfocitos, neutrófilos y células dendríticas, migran al parénquima isquémico debido al colapso de la BBB, mediado por moléculas de adhesión celular que incluyen selectinas, integrinas e inmunoglobulinas exacerbando el daño celular (Figura 11). Por otro lado, estas células inflamatorias activadas también pueden tener un papel

esencial en la remodelación de tejidos después de lesiones cerebrales, lo que contribuye a la reparación y lesión del tejido cerebral [20,62,63] (Figura 12).

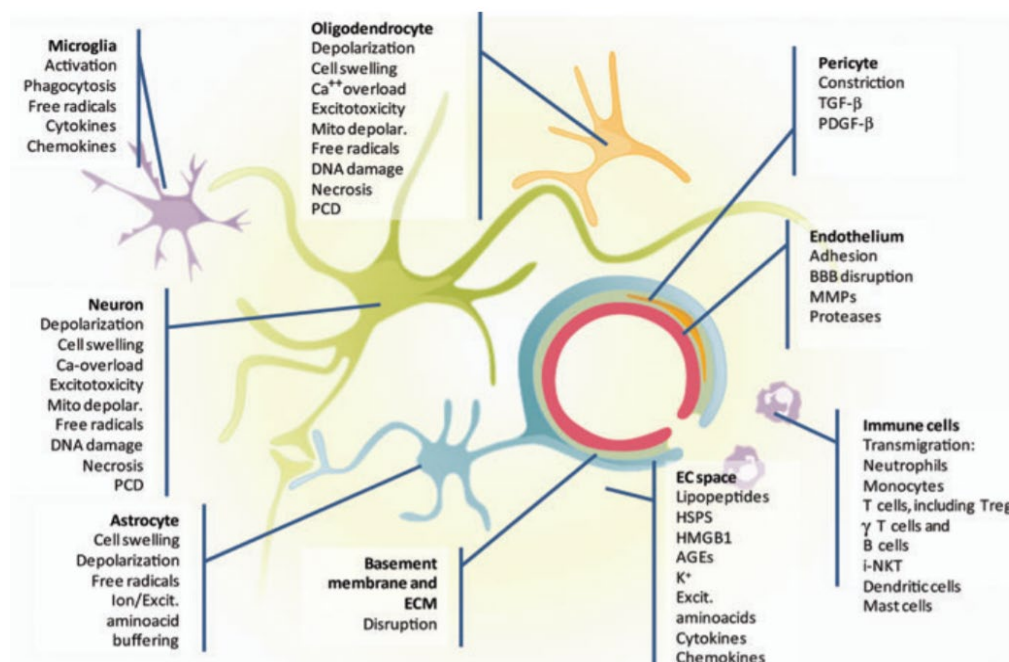


Figura 12. Unidad Neurovascular (UNV). Fisiopatología de la lesión y protección después del ictus. AGEs: Productos finales de glicosilación avanzada; BBB: Barrera hematoencefálica; ECM: Matriz extracelular; iNKT: Células asesinas naturales inducibles; HSP: Proteínas de choque térmico; MMP: Metaloproteinasas de matriz; PCD: Muerte celular programada. **Tomado de:** [43]

Después del evento isquémico la activación de los diferentes tipos de células ocurre en tiempos diferentes, abarcando desde la alteración de la morfología de las células de la glía hasta la invasión y destrucción tisular por leucocitos que migran desde la periferia [50].

En la fase primaria de la respuesta inmune, las *células NK* se infiltran en las lesiones isquémicas del cerebro. Inmediatamente después de la isquemia cerebral, la quimioquina fractalquina liberada por las neuronas isquémicas, reclutan más células NK. Esta infiltración determinará el tamaño de las lesiones cerebrales de manera independiente de los linfocitos T y B. Además, las células NK exacerban el infarto cerebral al aumentar la inflamación local y neuronal [20].

Las *células microgliales* son los macrófagos residentes del cerebro, que pertenece al sistema monocito-macrófago en la materia gris del cerebro en un porcentaje del 15% y están altamente activados después de un evento

cerebrovascular. No obstante, en condiciones normales las células del SNC se encuentran en un balance de señalización de factores inmunes y neurotróficos que están enfocados en mantener la homeostasis del cerebro al controlar la sinapsis, la activación neuronal y la eliminación de detritos celulares.

Principalmente estos estímulos tienen la finalidad de inhibir la activación de la microglía y no puede ejercer su función inmune en estado de reposo [64]. Según el microambiente, los macrófagos pueden diferenciarse en los subtipos M1 y M2. La regulación de M1/M2 es extremadamente importante para eliminar los detritos celulares y proteger las neuronas no dañadas. El subtipo M2 (activación alternativa), posee perfil antiinflamatorio, libera mediadores como la IL-4, IL-13, IL-33 y la IL-10, que contribuyen a la eliminación del hematoma, la curación, la reparación de los tejidos, la angiogénesis y protegen las neuronas no dañadas de la isquemia y la hipoxia. Sin embargo, el subtipo M1 (activación clásica), aumenta las citoquinas proinflamatorias (IFN- γ etc.) que agravan la lesión cerebral [8,18].

La isquemia activa la microglía y la transforma en células fagocíticas que liberan una variedad de sustancias citotóxicas y/o citoprotectoras. Esta activación alcanza su pico máximo de 3 a 7 días después del infarto, pero estas células permanecen dentro de la lesión durante semanas o incluso meses. Los efectos neuroprotectores de la microglía se ejercen generando factores neurotróficos como IGF-1 y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). En respuesta a la isquemia, las células microgliales activadas liberan citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) y la MMP-9; así como otras posibles moléculas neurotóxicas tales como prostanoïdes, óxido nítrico y ROS vía sistema NADPH oxidasa, que agravan la lesión isquémica cerebral, aumentando la probabilidad de muerte neuronal. Sin embargo, también puede proteger el cerebro contra los efectos inflamatorios de las lesiones isquémicas y citotóxicas [8,20].

Los *astrocitos* son las células gliales más abundantes y complejas del cerebro. Los astrocitos activados se asocian directamente con la respuesta inflamatoria después de un evento cerebrovascular. Se han observado 4-24 horas después del inicio de la isquemia, alcanzando un pico alrededor de los 4

días. Este estado se acompaña de la regulación astrocítica de la proteína ácida fibrilar glial. Aunque la microglía activada constituye la principal fuente de citoquinas en los tejidos cerebral, los astrocitos pueden producir grandes cantidades de quimioquinas CXCL1 y CXCL2, así como aumentar la actividad de MMP-9, mediante la expresión en la membrana de receptores de reconocimiento de patrón (PRRs) como los de receptores tipo toll (TLR), dando como resultado el aumento de la permeabilidad de la BBB y lesiones cerebrales secundarias a la infiltración de neutrófilos [18].

En definitiva, el proceso inflamatorio durante un evento cerebrovascular implica la participación de las neuronas, de la glía y de la microglía, mediando la migración, la infiltración y la acumulación de leucocitos en el parénquima cerebral durante la isquemia. Estos efectos se realizan a través de la expresión de citoquinas (IL-1 β , TNF α , IFN γ) y de quimioquinas como CCL2 (MCP-1), CCL5 y CXCL1 (GRO- α) que preceden a la infiltración de los leucocitos hacia la lesión isquémica, actuando a través de sus receptores CCR2, CCR5 y de CXCR2, respectivamente. La inflamación contribuye a la lesión tisular durante la fase temprana de la respuesta hipóxica-isquémica y durante el proceso de cicatrización en la fase tardía de la isquemia cerebral [50].

1.7.5. Quimioquinas

En el ictus el daño cerebral y la reparación están regulados por citoquinas, quimioquinas, moléculas de adhesión y metaloproteinasas de matriz [65]. Las quimioquinas son reguladores importantes de la activación y migración de leucocitos a los sitios de inflamación, incluidos los vasos sanguíneos y el corazón. Particularmente las quimioquinas, que regulan la quimiotaxis vascular de células inmunitarias y están estrechamente asociadas con la inflamación sistémica crónica, así como con la iniciación y progresión de la aterosclerosis, la principal causa de enfermedad cerebrovascular isquémica (ECVI) [8].

1.7.5.1. Clasificación de quimioquinas y sus receptores.

Las quimioquinas comprenden una familia de proteínas pequeñas (70 – 90 aa) altamente básicas, con una estructura terciaria similar que se estabiliza mediante enlaces disulfuro [7]. Se dividen en 4 subfamilias según el número y

la relación secuencial de sus residuos de cisteína (C) conservados en CX₃C o alfa, CC o beta, XC o gamma y CX₃C o delta [57]. Las quimioquinas CC y CX₃C coordinan la activación y el reclutamiento de células inmunitarias inflamatorias hacia el sitio de la inflamación durante la respuesta inflamatoria sistémica contra agentes infecciosos o dirigida a la placa aterosclerótica de vasos sanguíneos vulnerables en el infarto cerebral [57]. La actividad quimioatrayente de las quimioquinas ocurre mediante la interacción con receptores específicos en la superficie celular. Hasta la fecha se han identificado 50 quimioquinas y 20 receptores de quimioquinas [66].

Los receptores de quimioquinas pertenecen a la familia de los Receptores acoplados a proteínas G (RAPG), también conocidos como receptores transmembranales de siete dominios o receptores 7TM. La nomenclatura de los receptores se deriva de su unión a las quimioquinas: las quimioquinas CC se unen a los receptores CC (CCR), las quimioquinas CX₃C a los CX₃CR y de manera similar a los receptores C y CX₃C [7]. Dentro de una subfamilia, por lo general más de una quimioquina puede activar un receptor de quimioquina dado, pero en algunos casos se han documentado pares específicos de receptor/ligando [66].

La expresión y activación de los receptores de quimioquinas está relacionada principalmente con el control de la migración de leucocitos. Sin embargo, los receptores de quimioquinas también participan en la regulación de muchos otros procesos fisiológicos y patológicos, relacionados con enfermedades infecciosas y la inflamación, estas incluyen la angiogénesis, la formación de metástasis, enfermedades autoinmunes y cardiovasculares [67]. Además, existe una creciente evidencia de la expresión de los receptores de quimioquinas en el sistema nervioso central en procesos de neuroinflamación y neuroreparación [66,68].

1.7.5.2. Quimioquina CCL5/RANTES

La quimioquina CCL5/RANTES (Proteína regulada por activación, expresada y secretada, quimiotáctica para linfocitos T normales), también conocida como quimioquina (motivo CC) ligando-5 (CCL5), es una quimioquina tipo C-C β (68 aa), codificada por el gen CCL5 que abarca 8.8 kb en la región

q11.2–q12 del cromosoma 17 y tiene una organización característica de tres exones-dos intrones de la familia de quimioquinas CC [57,69].

El CCL5 cumple su acción biológica actuando de varias formas; por un lado en concentraciones nanomolares actúa como un quimiotransmisor selectivo de monocitos y linfocitos humanos e induciendo la migración de monocitos, eosinófilos, células T, células NK, mastocitos y basófilos a sitios de inflamación e infección, incluidos los vasos sanguíneos y el corazón, mediante la interacción con receptores acoplados a proteína G (RAPG). Por otra parte, en concentraciones micromolares en su forma agregada, induce la activación celular (proliferación, apoptosis y liberación de citoquinas) a través de una ruta independiente de RAPG [7].

El CCL5 se libera principalmente a partir de los gránulos- α de las plaquetas activadas o micropartículas de plaquetas que se unen a los glicosaminoglicanos en la superficie celular endotelial, donde favorecen la adhesión de leucocitos [70]. También se liberan de otras múltiples fuentes, predominantemente células T CD8⁺, macrófagos, eosinófilos, fibroblastos, monocitos, adipocitos, así como células endoteliales y células del músculo liso (SMCs) [6].

1.7.5.3. Receptor CCR5

El CCR5 es un receptor importante que se une a cuatro quimioquinas de la serie CC que participan en respuestas inflamatorias: CCL3 (proteína inflamatoria de macrófagos 1 α , MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), CCL5 (RANTES) y CCL8 (MCP-2) (Figura 13) [7,8]. El gen que codifica el receptor CCR5 está ubicado en el brazo corto de cromosoma 3p21.31, consta de 4 exones y solo 2 intrones. El gen codifica una proteína que consta de 352 aminoácidos, organizados en siete dominios transmembranales acoplados a la proteína G, con una masa molecular resultante de 40,6 kDa [66,71,72].

El CCR5 se expresa en varios tipos de células implicadas en la aterogénesis, como los monocitos, macrófagos, células T y plaquetas. También en las células dentro de la placa aterosclerótica, como las células endoteliales coronarias y células del músculo liso vascular, lo que sugiere un posible papel

en la respuesta inflamatoria en la enfermedad cardiovascular [66]. Además, el CCR5 es el principal receptor para quimioquinas en células del SNC, expresado en astrocitos, microglía y neuronas, relacionándose con numerosas condiciones patológicas en el cerebro y enfermedades neurodegenerativas, incluyendo el aumento de la lesión microvascular en el cerebro [74].

Se ha identificado una variedad de polimorfismos de nucleótidos únicos (SNP) en las regiones codificantes o no codificantes en los genes quimioquinas y de sus receptores, que pueden potencialmente alterar los niveles de expresión génica, estabilidad, y las interacciones receptor-ligando u otras moléculas de unión. En consecuencia, varios de estos polimorfismos se han asociado con un aumento o disminución en la progresión de distintas patologías [7].

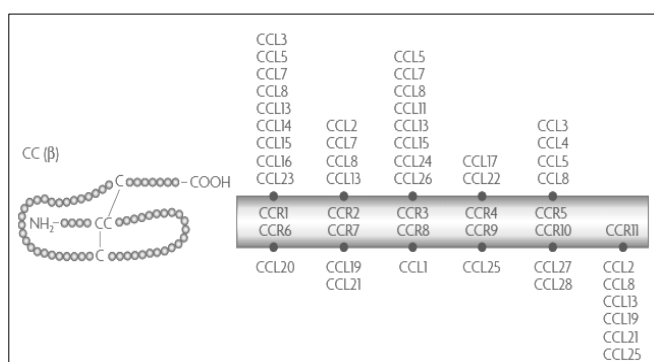


Figura 13. Clasificación de la familia de quimioquinas CC (o β-quimioquinas) y sus respectivos receptores. En las quimioquinas de esta familia los dos primeros residuos de cisteína (CC) son adyacentes entre sí. Los miembros de esta familia de quimioquinas quimioatraen monocitos, macrófagos, basófilos, linfocitos T y eosinófilos, pero tienen poco o ningún efecto directo sobre los neutrófilos. **Modificado de: [73].**

1.7.6. Daño por isquemia/reperfusión (I/R).

La reperfusión consiste en el restablecimiento del CBF al tejido isquémico, que es imprescindible para la recuperación y evitar la muerte de las células hipoperfundidas de la zona del cerebro afectada y de la microvasculatura. Sin reperfusión el tejido afectado carece del suministro de nutrientes esenciales para la viabilidad celular. Sin embargo, diversos estudios indican que la reperfusión a nivel cerebral puede tener efectos no deseados más pronunciados después de la recanalización vascular conocidas como lesión por reperfusión [75].

La lesión por reperfusión se define como una cascada bioquímica que provoca la acentuación del deterioro del tejido cerebral isquémico después del restablecimiento del flujo de O₂, que compromete y antagoniza con el efecto beneficioso de la recanalización del vaso ocluido [76]. El daño por reperfusión

se da por varios motivos. En primer lugar, los sistemas antioxidantes de la zona cerebral afectada no son suficientes para mitigar la gran cantidad de radicales libres que se liberan al restaurar el CBF. En segundo lugar, el endotelio vascular dañado puede llevar a una extravasación de líquidos que puede llegar a producir un edema cerebral [77].

Durante la fase de reperusión los mecanismos fisiopatológicos que ocurren incluyen la liberación de neurotransmisores excitotóxicos e intracelulares, acumulación de Ca^{2+} , daño por radicales libres, apoptosis neuronal, neuroinflamación, lipólisis, aumento de expresión de moléculas de adhesión, disminución de la permeabilidad de la BBB, infiltrado de leucocitos, activación del complemento y riesgo de transformación hemorrágica por reperusión tardía [76].

Las variaciones del CBF que ocurren durante y después de la reperusión se asocian con las fluctuaciones en la permeabilidad de la BBB. Al inicio se produce una fase de hiperemia seguida por periodo de hipoperfusión. En la fase de hiperemia se produce una pérdida de la autorregulación del CBF y la apertura de las uniones estrechas de la BBB y la formación de edema intersticial. En el periodo de hipoperfusión puede aparecer el fenómeno de “no reflujo” [78]. Este fenómeno se describe como el fallo de la microcirculación para mantener el CBF dentro de los niveles basales a pesar de que haya una apertura satisfactoria de la arteria ocluida, resultando en una deficiencia del soporte nutricional necesario para la recuperación del tejido afectado [79] (Figura 14).

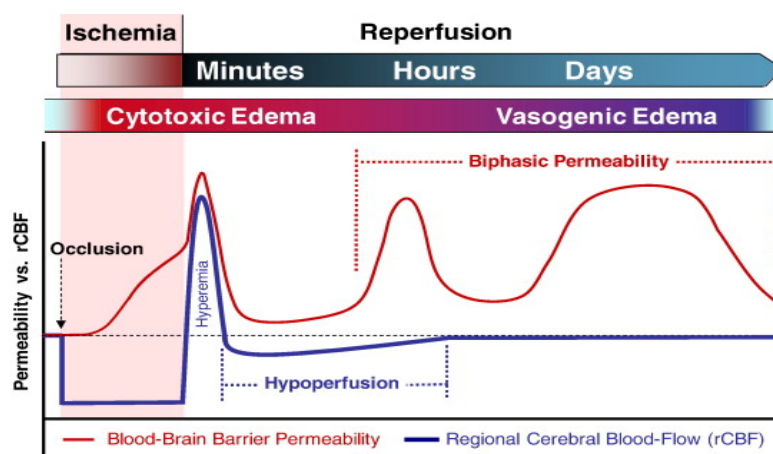


Figura 14. Esquema de las variaciones de la permeabilidad de la BBB asociadas con la isquemia cerebral y el curso temporal de la reperusión. La variabilidad ocurre en el marco de tiempo de los mediadores identificados, dependiendo de la distancia del tejido desde el núcleo isquémico y la duración del daño isquémico. **Tomado de:** [79]

Las consecuencias clínicas de estos mecanismos fisiopatológicos incluyen hemorragia intracerebral, edema cerebral, fracaso de la regresión de la isquemia y empeoramiento neurológico. La principal estrategia terapéutica para el ictus isquémico agudo tiene como objetivo, salvar el tejido isquémico "reversible" (penumbra isquémica) lo más rápido posible, dentro de un período terapéutico limitado mediante la recanalización urgente de las arterias afectadas y reperfusión precoz del tejido cerebral. Las estrategias de reperfusión actuales incluyen i) terapia farmacológica (recombinante activador del plasminógeno tisular [rtPA]), ii) métodos mecánicos (dispositivos de recuperación de stent) y iii) métodos físicos (dispositivos de succión) y cualquier combinación de estos [75].

1.7.6.1. Estrés oxidativo y nitrosativo en la I/R

Una de las principales complicaciones fisiopatológicas durante la isquemia, y especialmente durante la reperfusión es la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (ROS, Reactive Oxygen Species) y de especies reactivas del nitrógeno (RNS, Reactive Nitrogen Species); entre estas últimas destaca el óxido nítrico (NO) [77,80]. Durante la I/R se presenta un estado de estrés oxidativo, que consiste en un desequilibrio entre los radicales libres generados durante los diferentes procesos de la cascada isquémica y la capacidad del tejido para desintoxicarse [77]. El tejido cerebral isquémico es muy sensible a los efectos nocivos del estrés oxidativo debido a que posee altas concentraciones de lípidos peroxidables, niveles bajos de antioxidantes protectores, alto consumo de oxígeno y altos niveles de hierro que actúan como prooxidantes en condiciones patológicas [81,82].

La eliminación de ROS en la célula se lleva a cabo a través del sistema endógeno antioxidante, que está constituido por el conjunto de superóxido dismutasas (SOD) y sus isoformas, que convierten el anión O_2^- en H_2O_2 , que será procesada por otras enzimas como la catalasa o glutatión peroxidasa hasta H_2O . En condiciones normales, este sistema es suficiente para corregir la cantidad de radicales libres producidos y prevenir el daño celular. Sin embargo, durante la isquemia cerebral se producen concentraciones anormalmente elevadas de radicales libres, entre los que se encuentran el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH), el óxido nítrico (NO) y el anión peroxinitrito

(ONOO-), implicados en la pérdida de la homeostasis y la desregulación de los procesos celulares, no solo en las neurona y la glía, sino también en las células endoteliales y las células del sistema inmunológico, que pueden terminar con la desintegración de los tejidos y la muerte celular [83].

Los ROS principalmente se acumulan como subproductos de la cadena respiratoria durante el periodo de oclusión, así como durante la reperusión. Su producción se puede generar por diferentes vías, tanto en estados iniciales como tardíos de la isquemia cerebral mediante mecanismos fisiopatológicos diferentes: inicialmente, se producen por el metabolismo del ácido araquidónico y la activación de enzimas oxidantes como la NADPH oxidasa (NOX), la xantina oxidasa (XO) o la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS); en estados intermedios, los ROS provienen del aporte correspondiente a la infiltración de neutrófilos en el área isquémica; en estados más tardíos su presencia está mediada por la síntesis y activación de las enzimas óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2) [84].

El O_2^- es el agente oxidante más importante, debido a que causa daño cerebral directamente. La interacción del O_2^- con el NO puede producir ácido peroxinitroso (ONOOH) que se descompone espontáneamente para producir OH-. La reactividad entre el NO con el O_2^- también puede formar el anión peroxinitrito (ONOO-), lo que lleva a la destrucción de moléculas cercanas así como a un descenso en la biodisponibilidad del NO en los vasos cerebrales [77,82].

El ONOO- es muy tóxico por su alta capacidad oxidante, puede causar la fragmentación del DNA y la peroxidación lipídica, también oxidación y nitrosilación de grupos sulfhidrilo a un ritmo mil veces superior que el H_2O_2 e inhibe la función de diversas enzimas, especialmente la glutatión peroxidasa y la citocromo c oxidasa que se encuentra a nivel mitocondrial, alterando la cadena respiratoria y disminuyendo la producción de ATP [80-82]. El ONOO- induce nitrotirosinación de proteínas, un cambio irreversible que puede alterar su funcionalidad, así como se ha descrito para el fibrinógeno después del ictus [83].

Los radicales libres también estimulan la activación del complemento, las plaquetas y la célula endotelial, promoviendo un estado procoagulante. Estimulan la activación de leucocitos y provocan la producción de eicosanoides (TxA₂ y LTB₄), que en conjunto median la infiltración leucocitaria al cerebro [85]. Además, el NO induce la fusión de vesículas sinápticas a la membrana, con liberación de neurotransmisores como el glutamato a la hendidura sináptica, contribuyendo aún más al daño por excitotoxicidad [81].

1.7.6.2. El óxido nítrico en la I/R

El óxido nítrico (NO) se sintetiza a partir de la L-arginina gracias a la acción de la enzima sintasa de óxido nítrico (NOS), de la cual se conocen tres isoformas: forma neuronal (nNOS), forma endotelial (eNOS) y forma inducible (iNOS) [80]. El NO tiene una vida media muy corta entre 10 y 50 segundos, debido a que se oxida formando nitratos y nitritos, los cuales son los metabolitos estables de este gas [86]. El NO en condiciones normales es metabolizado por mecanismos enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa) y mecanismos no enzimáticos como las vitaminas C y E y el glutatión; de modo que existe un equilibrio entre los radicales que se producen y los que son eliminados [87].

El NO es un radical libre endógeno sintetizado en estado gaseoso, por lo que traspasa pasivamente la membrana celular por afinidad lipofílica sin requerir ningún tipo de transportador ni receptor de membrana [77]. Al difundir al torrente sanguíneo, reacciona con la oxihemoglobina o a nivel muscular con la oximioglobina formando metahemoglobina y nitratos. A nivel intracelular participa en la cascada de señalización celular, mediada por la activación directa de la guanilato ciclasa, lo que resulta en la síntesis de GMPc, el cual activa diferentes procesos celulares, principalmente la vasodilatación de los vasos sanguíneos; también juega un papel importante en la regulación de la actividad vasoconstrictora y vasodilatadora mediada por los eicosanoides [86,88].

El equilibrio entre la actividad vasoconstrictora/vasodilatadora, está determinado por la biodisponibilidad de NO, los niveles de adenosina, el oxígeno tisular, el lactato y el tono arterial basal. La deficiencia de NO

promueve diferentes reacciones en el lecho vascular como la vasoconstricción, la agregación plaquetaria, la proliferación de músculo liso y la interacción leucocitaria con el endotelio. Así mismo, en modelos animales con inactivación de la eNOS se ha visto que produce hipertensión, aterosclerosis e ictus cerebral [77,89].

El NO es una de las moléculas que participa en todos los principales mecanismos fisiopatológicos complejos del ictus que determinan el daño cerebral primario y secundario [77]. Esta molécula principalmente ha sido reconocida como un factor endotelial que regula diferentes funciones en células y tejidos de mamíferos, tales como: (a) el control de la presión sanguínea; (b) la relajación del tono del músculo liso arterial; (c) la agregación y adhesión plaquetaria; (d) la neurotransmisión y (e) la función neuroendocrina [89]. Sin embargo, a nivel cerebral el ON tiene muchos efectos en otras células diferentes a la musculatura lisa de los vasos sanguíneos, está íntimamente relacionado con la activación de la cascada inflamatoria, la alteración de la función mitocondrial, la angiogénesis y la neurogénesis, siendo estos últimos dos procesos fundamentales para la neurorreparación posterior al ictus [77].

En la circulación cerebral se han descrito las tres isoformas del óxido nítrico. La actividad de las isoformas eNOS y nNOS, localizadas en neuronas y células endoteliales respectivamente, forman parte de las NOS constitutivas dependientes de calcio y actúan en los procesos fisiológicos de la circulación cerebral. Su activación durante la isquemia cerebral ocurre principalmente en las fases iniciales. En contraste, la isoforma iNOS es independiente de calcio, es producida por diferentes tipos celulares del sistema nervioso como astrocitos y la microglía como un primer paso del sistema inmune cuando se detecta algún tipo de daño al tejido nervioso [77,80].

El NO puede desempeñar un papel dual en el ictus, actuando como un agente perjudicial o protector, dependiendo de la isoforma y del tipo de célula que lo produzca, las condiciones cerebrales, la duración de la liberación y la concentración de NO [80]. Durante el ictus, el NO es una de las moléculas que sufre más cambios en su patrón de producción para adecuarse a los cambios

en el CBF. En resumen, en el ictus isquémico tienen lugar los siguientes cambios relacionados con el NO:

- Disminución de los niveles del NO endotelial y neuronal en consecuencia de la disminución repentina del aporte sanguíneo.
- Aumento a los pocos minutos de producirse el ictus de la actividad y expresión de eNOS, como intento de regular y compensar el flujo sanguíneo por medio de la vasodilatación. El NO producido por eNOS reduce la apoptosis y confiere protección contra el infarto cerebral.
- Aumento más tardío de la actividad y expresión de nNOS, incrementando la concentración de NO a medio plazo al daño isquémico en el cerebro.
- Tras varias horas de iniciarse el ataque isquémico, las células isquémicas son capaces de activar otras vías de producción de NO como la iNOS, produciendo niveles elevados de NO que inducen varios factores proinflamatorios que llevan a la activación de la cascada inflamatoria, induciendo apoptosis y neurotoxicidad.
- La microglía es la encargada de regular las reacciones inflamatorias del SNC. El NO puede ejercer su efecto neuroprotector al cambiar el fenotipo de macrófagos activados al M2 y empezar una activación de factores antiinflamatorios que protegen la zona isquémica y reducen la muerte neuronal [8].

1.7.6.3. Óxido nítrico neuronal

En el SNC el NO tiene diferentes funciones, siendo importante en la regulación del CBF en respuesta a factores físicos y bioquímicos, contrarrestando la vasoconstricción y permitiendo un aporte constante de flujo sanguíneo. El NO a diferencia de los neurotransmisores clásicos no se almacena en vesículas y en las neuronas productoras de NO la enzima guanilato ciclasa no se produce, lo que sugiere que existe una cooperación intercelular en la transmisión de estas señales, relacionándose con la señalización glutamatérgica, GABAérgicas, peptidérgicas, colinérgicas o células neuroendócrinas del hipotálamo [86].

La nNOS se encuentra altamente difundida en la corteza cerebral, hipocampo, y núcleo estriado y la isoforma endotelial es sintetizada en respuesta al estrés mecánico que produce el flujo sanguíneo sobre la pared del endotelio y participa en procesos de plasticidad neuronal, neurotransmisión o neuromodulación, aprendizaje y memoria [86]. En condiciones fisiológicas, la nNOS está activa constitutivamente produciendo NO en bajas concentraciones y al igual que la eNOS, esta isoforma es regulada por caveolinas (caveolina 3) y Hsp90 [90].

Durante la isquemia el descenso del CBF provoca una disminución abrupta de la concentración del NO. Sin embargo, las células isquémicas son capaces de incrementar su concentración por activación de la nNOS, a través del aumento del calcio intracelular hasta por encima de 200 nmol/L, mediante los receptores N-metil-D-aspartato (NMDAr), (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxa- zolpropiónico (AMPA) y metabotrópicos de glutamato y esto lleva a que los niveles fisiológicos de NO se estabilicen 1 hora después del evento inicial [77]. El NO derivado de nNOS en neuronas es una de las mayores fuentes de neurotoxicidad en la isquemia, al aumentar su concentración por más tiempo [91]. El aumento de Ca^{2+} intracelular, derivado de la excitotoxicidad por glutamato, también lleva a la activación de la nNOS [92].

La inhibición de la nNOS también ha demostrado varios efectos neuroprotectores como la disminución del área de penumbra y de la necrosis neuronal, una disminución de la excitotoxicidad y una disminución de la expresión de caspasa-3, responsable de la mitoptosis y algunos efectos perjudiciales como la producción de radicales libres [77]. Sin embargo, el efecto de la nNOS sobre el daño tisular y el resultado funcional tras el ictus es dependiente del sexo [93]. La reducción de la activación neuronal de óxido nítrico ON protege solo el cerebro masculino y aumenta la lesión isquémica en las mujeres [94].

1.7.6.3.1. Óxido nítrico endotelial

La eNOS se localiza principalmente en la membrana de células endoteliales de los vasos sanguíneos, incluyendo aquellos que irrigan al cerebro; además

de en el citosol de los macrófagos, astrocitos y neuronas de diferentes regiones cerebrales incluyendo el hipocampo [86].

La eNOS cumple un papel importante en el mantenimiento de la perfusión tisular y está sobreexpresada después de la isquemia, aumentando los niveles de NO inmediatamente durante un corto espacio de tiempo. Entre sus funciones neuroprotectoras está la capacidad de disminuir la cantidad de radicales libres circulantes, la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión, la activación de la agregación plaquetaria y la adhesión linfocítica. Además de esto, muestra actividad antiinflamatoria y antiapoptótica [77,80].

La activación de la eNOS se debe principalmente al aumento intracelular de Ca^{2+} que ocurre durante la cascada isquémica. Este Ca^{2+} se une a la calmodulina activando esta isoforma que mayoritariamente se encuentra en la membrana celular [80]. Las caveolinas (proteínas integrales de membrana plasmática presentes en las caveolas) y la calmodulina se someten a una asociación y disociación de eNOS con la membrana caveolar dependiente de Ca^{2+} . Las caveolinas inhiben la actividad de eNOS, mientras la calmodulina la estimula [95,96].

La producción de NO por parte de la eNOS tiene principalmente como diana la célula muscular lisa que forma la pared vascular. El NO que difunde a través de las membranas celulares estimula la guanilato ciclasa soluble al unirse a su grupo hemo [86]. En las células de la pared vascular se activa una proteína quinasa que lleva a cabo la extrusión de Ca^{2+} desde el citoplasma por las bombas de $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ATPasa provocando la relajación muscular y con ello la vasodilatación, regulando el flujo y la presión sanguínea. Por lo tanto, la liberación de NO por parte de eNOS es considerado beneficioso tras un ataque isquémico [77,96].

1.7.6.3.2. Óxido nítrico derivado del iNOS

La isoforma iNOS es producida por diferentes tipos celulares del sistema nervioso como los astrocitos y la microglía como un primer paso del sistema inmune innato cuando se detecta algún tipo de daño al tejido nervioso [8]. También se ha identificado en diferentes tipos celulares como neuronas,

células del músculo liso y endotelio vascular, y en linfocitos y neutrófilos infiltrados en el tejido cerebral isquémico [80].

Su expresión es inducida generalmente por mediadores inflamatorios tales como las endotoxinas o las citoquinas inflamatorias, como el interferón-gamma (INF- γ), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) o la interleuquina-1 (IL-1). En estos casos no se requiere el incremento en la concentración intracelular del Ca^{2+} [86]. Aunque la isoforma iNOS necesita también calmodulina, no depende de forma estricta de las concentraciones de calcio, debido a que la calmodulina está fuertemente unida a ella a niveles basales de calcio intracelular [80]. Esta activación ocurre después de que se hayan activado eNOS y nNOS, y la producción de NO es mayor que las otras isoenzimas y mantenida en el tiempo,

En el ictus isquémico, la expresión de la iNOS aumenta durante las primeras 24 horas posteriores al evento hasta 1 semana después. Esta activación causa una sobreproducción de NO en el área isquémica 1000 veces mayor que la producida por la nNOS. La iNOS promueve la secreción de citoquinas inflamatorias, tales como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleuquina 1 beta que se encargan de activar la cascada inflamatoria post isquemia y también de la generación de nuevos radicales libres que contribuyen de forma importante a la progresión del daño cerebral. El efecto nocivo del daño nitroxidativo puede persistir hasta 8 días después del evento [77].

1.7.6.3.3. Óxido nítrico y neuroreparación posterior al ictus

La angiogénesis cerebral y la neurogénesis son dos procesos fundamentales para la neuroreparación posterior al ictus. La angiogénesis se inicia en las zonas periféricas del infarto durante las primeras semanas y persiste durante varios meses después de la aparición del ictus. Sin embargo, las regiones donde se produce este fenómeno exhiben un aumento transitorio de la permeabilidad vascular 2 a 3 semanas después del ictus, posteriormente la extravasación disminuye [77].

Se ha demostrado que el uso de NO inhalado es capaz de aumentar las concentraciones de NO en la microvasculatura cerebral y ejerce un efecto neuroprotector después del ictus. La administración del NO inhalado después de la aparición del ictus isquémico disminuye el área del infarto cerebral y mejora la función neurológica en modelos animales. También disminuyó el área de penumbra hasta en un 50%, favoreciendo un remodelamiento vascular protector [77,88].

En cuanto a la neurogénesis después del ictus, los neuroblastos generados en la zona subventricular del ventrículo derecho, uno de los nichos neurogénicos que permanecen activos en el cerebro adulto, migran a la zona de penumbra a través de la migración rostral, en lo que se denomina migración ectópica y algunos neuroblastos consiguen expresar fenotipos de neuronas maduras y funcionales, pero esta neurogénesis endógena es insuficiente para reparar el área dañada y compensar las alteraciones neurológicas que la enfermedad conlleva [97,98]. La elevación de NO después del ictus, independientemente de su origen, podría mejorar la neurogénesis. De hecho, la administración de fármacos donadores de ON 24 horas después del inicio del ictus aumenta significativamente la neurogénesis en la isquemia. La neurogénesis y la angiogénesis son procesos que van de la mano ya que sin el otro no es posible su progresión individual [77].

2. OBJETIVOS/PLAN DE TRABAJO

El propósito de la presente revisión fue describir el estado actual del conocimiento sobre CCL5/CCR5 en el sistema nervioso central, su participación en la regulación de la respuesta neuroinflamatoria en la fisiopatología del ictus y su posible uso como un nuevo enfoque, diagnóstico y terapéutico, para la intervención clínica de las distintas patologías cerebrovasculares.

3. METODOLOGÍA

3.1. Fuentes de información y estrategia de búsqueda

Se realizó una búsqueda bibliográfica sistemática para identificar los artículos publicados entre enero de 2000 y junio de 2020, que evalúan CCR5/CCL5 en estudios clínicos y modelos animales de ictus, utilizando las bases de datos electrónicas en PubMed y Google Scholar.

También se incluyeron estudios adicionales mediante una búsqueda manual en las referencias bibliográficas de estudios originales o artículos de revisión que se identificaron en la búsqueda. En la búsqueda bibliográfica libre no se impusieron restricciones en relación con la fecha de publicación del artículo.

La búsqueda en PUBMED (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) se realizó con la combinación de los términos MeSH y operadores booleanos descritos en el Anexo 1.

En Google Scholar (<https://scholar.google.es/>), se realizó la búsqueda empleando la combinación de los términos para identificar los estudios: (Stroke OR ictus OR "ischemic stroke" OR "cerebral ischemia") AND (CCR5 OR CCL5 OR "chemokine receptor 5" OR "Chemokine ligand 5") NOT (-cancer, -anemia, -renal, -HIV, -AIDS, -chagas).

3.2. Selección de estudios

Los estudios seleccionados para su análisis se consideraron elegibles para ser incluidos en la revisión si cumplían con los siguientes criterios de elegibilidad.

3.2.1. Criterios de Inclusión

- Idioma: inglés y español.
- Tipo de Publicación: Artículos originales.
- Diseño de estudio: investigaciones experimentales con modelos de ictus, estudios clínicos.
- Población de Estudio: pacientes con diagnóstico de ictus o animales de experimentación.
- Fecha de publicación entre enero de 2000 y hasta 2020.

3.2.2. Criterios de exclusión

- Se excluyeron comunicaciones de casos, series de casos, revisiones, editoriales, cartas, resúmenes de congresos y entrevistas.
- Se excluyeron estudios de asociación entre CCL5/CCR5 y otras patologías de etiología no cardiovascular.

La recuperación de los textos completos de cada uno de los artículos obtenidos a partir de la búsqueda desarrollada se realizó en dos fases. En la primera fase de selección, se revisó el título y resumen de cada publicación, para determinar si el estudio cumplía con los criterios de elegibilidad. En la segunda fase de selección, se confirmó la elegibilidad de las publicaciones al revisar el texto completo de los estudios seleccionados que cumplieran con los criterios de inclusión.

3.3. Organización de la información

Para la selección final de las publicaciones, los registros de cada uno de los artículos se separaron en los tres grupos y se importaron al software de gestión de referencias bibliografías ReadCube Papers aplicación online y desktop, versión 4.0.8 (<https://www.papersapp.com/>), (Copyright © 2011-2020 Digital Science & Research).

- Grupo 1: Estudios experimentales que emplearon modelos animales de ictus para evaluar el efecto de CCL5/CCR5 en la neuroinflamación.

- Grupo 2: Estudios clínicos que evaluaron la asociación entre los polimorfismos de los genes CCL5 y CCR5 con el riesgo de padecer ictus.
- Grupo 3: Estudios clínicos que determinaron los niveles plasmáticos de CCL5/RANTES en pacientes con ictus, para evaluar su asociación con la fisiopatología de la enfermedad.

3.4. Estrategia de extracción de datos

A partir del texto completo de los estudios elegidos para su evaluación, para cada publicación se identificó: objetivos, métodos, resultados y conclusiones, extrayendo la información respectiva, para cada categoría de estudio, que a continuación se describen:

- Grupo 1: autor principal, revista y año de publicación, tipo de modelo animal, Resultados.
- Grupo 2: autor principal, revista y año de publicación, tamaño de muestra, tipo de ictus, etnia, localización geográfica, tipo de mutación, diseño de estudio, Resultados.
- Grupo 3: autor principal, revista y año de publicación, tamaño de muestra, tipo de ictus, etnia, localización geográfica, diseño de estudio, niveles séricos de CCL5, Resultados.

4. RESULTADOS

4.1. Identificación de estudios

En total, a partir de la búsqueda en las bases de datos PubMed y Google Scholar se identificaron 298 artículos y a partir de otras fuentes se seleccionaron 9 artículos, para un total de 307 artículos.

Al aplicar el proceso de selección de los artículos de acuerdo a los criterios de inclusión, se seleccionaron 32 artículos para la lectura y análisis cualitativo (Anexo 2).

Los artículos seleccionados para el análisis cualitativo se organizaron en los grupos descritos en el apartado 3.4.

Tabla 2. Características de los estudios experimentales que emplean modelos animales de ictus para evaluar el efecto de CCR5/CCL5 en la neuroinflamación.

| Referencia (Autor, Año) | Modelo Animal | Modelo de Isquemia | Resultados | Conclusiones |
|-----------------------------------|--|-----------------------|--|--|
| Terao <i>et al.</i> , 2008 [100] | Ratones macho C57BL/6J | tMCAo | <ol style="list-style-type: none"> Reducción del volumen de infarto en los ratones deficientes de CCL5 (-/-). Reducción significativa de la permeabilidad BBB en los ratones deficientes de CCL5 (-/-). | CCL5 es un mediador de la ruptura de BBB inducida por I/R, la lesión tisular y el fenotipo inflamatorio y protrombogénico asumido por la microvasculatura cerebral después de I/R focal. |
| | CCL5 (WT) CCL5 (-/-) Ratones híbridos B6.SJL-Ptprc ^a Pep3 ^b /BoyJ WT>WT CCL5>WT | | | |
| Sorce <i>et al.</i> , 2010 [101] | Ratones C57BL/6 CCR5 (-/-) CCR5 (WT) | pMCAo | <ol style="list-style-type: none"> Aumento del volumen del infarto. Mayor infiltración de neutrófilos. Aumento de la muerte neuronal en la zona afectada. | La delección de CCR5 agrava la lesión cerebral y la deficiencia neurológica después de la isquemia cerebral. |
| Sieber <i>et al.</i> , 2011 [102] | Ratones macho C57/BL6 | tMCAo | <ol style="list-style-type: none"> Hasta 7 días después de la reperusión, las tasas de mortalidad fueron del 7% y el 39% en ratones de 2 meses y 24 meses, respectivamente. Reducción del volumen de infarto en ratones de 24 meses, a diferentes tiempos de reperusión (2 h, 2 d y 7 d). La expresión de ARNm de CCL5 aumentó continuamente hasta 7 días después tMCAo en ratones de 2 meses (3,5-fold, $p=0,001$), mientras que no se observó regulación positiva en cerebros envejecidos. Los niveles de CCL5 se correlacionaron significativamente con la edad (Pearson, $p=0,05$), en ratones envejecidos los niveles se elevaron a las 48 horas. | <p>Los niveles postisquémicos atenuados de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias pueden considerarse como un mecanismo neuroprotector de modulación de la neuroinflamación dependiente de la edad.</p> <p>Los infartos más pequeños en cerebros de ratones de 24 meses, podría ser potencialmente una consecuencia un mecanismo neuroprotector de modulación de la neuroinflamación dependiente de la edad.</p> <p>La disminución de los niveles de CCL5 se relacionan con la reducción del volumen de la zona infarto en cerebros de animales envejecidos.</p> |
| | 2 meses 9 meses 15 meses 24 meses | | | |

Tabla 2. Continuación.

| Referencia (Autor, Año) | Modelo Animal | Modelo de Isquemia | Resultados | Conclusiones |
|---------------------------------------|--|-----------------------|---|--|
| Wolinski and Glabinski, 2013 [103] | Ratones hembra SJL/J de 8 a 12 semanas | ET-1 | <ol style="list-style-type: none"> Los niveles de expresión de CCL5 aumentaron entre 46 y 30 veces a las 24 y 72 horas ($P = 0,008$ y $0,008$), respectivamente, después de la inducción del modelo experimental de ictus. Aumento de la migración de linfocitos y monocitos/macrófagos al hemisferio cerebral isquémico a las 72 h después de la inducción del modelo. No hubo correlación entre el incremento de la expresión de CCL5 en la etapa inicial del modelo de accidente cerebrovascular y la intensidad de la neurodegeneración. | <p>CCL5 aumentó significativamente en la fase temprana del modelo de accidente cerebrovascular, no se observó una correlación clara de esta expresión con la neurodegeneración.</p> <p>La neurodegeneración temprana se correlaciona con la infiltración de linfocitos y macrófagos al cerebro a través de la BBB.</p> |
| Tokami <i>et al.</i> , 2013 [104] | Ratones macho C57BL/6J de 7 a 8 semanas de edad | MCAo | <ol style="list-style-type: none"> Los niveles de CCL5 fueron significativamente más altos en ratones (N=8) a las 24 h después de MCAO ($p=0.05$). La expresión de CCR5 fue mucho más elevada en neuronas en el área peri-infarto del hemisferio isquémico el día 1 después de MCAO, cuando las células inflamatorias aún no se infiltran en áreas de infarto. | <p>La expresión de CCL5 se produjo a partir de neuronas del área peri-infarto y podría actuar de manera autocrina / paracrina en la fase aguda del accidente cerebrovascular isquémico.</p> <p>La expresión de CCL5 puede provocar un efecto neuroprotector en parte al inducir la producción de moléculas neuroprotectoras en células neuronales cercanas (BDNF, VEGF y EGF), a través de receptores específicos neuronales después evento isquémico.</p> |
| Li <i>et al.</i> , 2016 [105] | Ratas Wistar macho | tMCAo | <ol style="list-style-type: none"> Reducción del volumen de la lesión de isquemia. Disminución déficit neurológico. | <p>El antagonista de CCR5 condujo a la reducción del déficit neurológico y el volumen de la lesión de isquemia, a través de un efecto neuroprotector de CCR5 mediado por ROCK2 y PMLC2.</p> |
| Fan <i>et al.</i> , 2016 [106] | Ratones macho C57BL/6J de 10 semanas de edad | MCAo | <ol style="list-style-type: none"> Inhibición de la formación de heterodímero CXCL4-CCL5. Reducción del volumen de la lesión de isquemia. Disminución déficit neurológico. Disminución del infiltrado de macrófagos y neutrófilos. | <p>La administración de MKEY protege contra la lesión cerebral inducida tras el ictus, al inhibir la neuroinflamación mediada por macrófagos derivados de monocitos.</p> |

Tabla 2. Continuación.

| Referencia (Autor, Año) | Modelo Animal | Modelo de Isquemia | Resultados | Conclusiones |
|-------------------------------------|---|-----------------------|---|--|
| Victoria <i>et al.</i> 2017 [107] | Ratones macho adultos C57BL/6 CCR5 (-/-) CCR5 (WT) | BCCAO | 1. Reducción del volumen de infarto. 2. Mejora del déficit neurológico. Aumento del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). | La eliminación de CCR5 protege contra la isquemia cerebral, conduce a una mejora del déficit neurológico y a la reducción del volumen de infarto. |
| Li <i>et al.</i> , 2017 [108] | Ratones macho C57BL/6J de 8 a 12 semanas de edad Ratones B6.129P2-Ccr5 ^{tm1Kuz} /J (C57/BL6 background) | tMCAo | 1. Disminución del infiltrado de neutrófilos. 3. Prevención de la destrucción de la BBB después del evento cerebrovascular. | CCR5 es importante para la acumulación de Tregs en el BBB isquémico. Las células Tregs cumplen un papel neuroprotector mediante la supresión inmune, inhibiendo la producción de MMP-9 por parte de los neutrófilos periféricos, evitando así el daño proteolítico al BBB y protegiendo contra la I/R cerebral. |
| Victoria <i>et al.</i> , 2019 [109] | Ratones macho C57BL/6 de 9 a 11 semanas de edad | tBCCAO | 1. Los niveles cerebrales de CCL5 fueron significativamente más altos en ratones (N=6) a las 72h después de BCCAO ($p=0.01$). 2. Aumento del volumen del infarto cerebral. Déficit neurológico caracterizado por ptosis y ataxia, asociado a lesiones cerebrales tres días después de la perfusión. | La sobreexpresión de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias, contribuyen al daño cerebral y al déficit neurológico después de la isquemia cerebral global seguida de tres días de perfusión, lo que lleva a la expansión del volumen del infarto cerebral. CCL5 parece promover la trans migración de neutrófilos y macrófagos periféricos al cerebro, manteniendo un proceso neuroinflamatorio cíclico y exacerbado. |
| Joy <i>et al.</i> 2019 [110] | Ratones macho adultos C57/BL6 | Fototrombosis (PT) | 1. No hubo cambios en el volumen del infarto. 2. Reduce el déficit neurológico: Mejora la recuperación cognitiva y motora. 3. Evita la pérdida inicial de las espinas dendríticas. | CCR5 se expresa diferencialmente en neuronas y microglía. La disminución de la expresión de CCR5 en neuronas, promueve la recuperación motora y mejora la capacidad cognitiva después de una lesión cerebral traumática y accidente cerebrovascular. |

Tabla 2. Continuación.

| Referencia (Autor, Año) | Modelo Animal | Modelo de Isquemia | Resultados | Conclusiones |
|-------------------------------|--|-----------------------|--|---|
| Ping <i>et al.</i> 2020 [111] | Ratones C57BL/6J | pCCAo | 1. Aumento del volumen del infarto. | El aumento del tamaño de la zona del infarto se correlaciona con la deficiencia del receptor CCR5 (-/-) en las células del cerebro y no con las células CCR5 (-/-) derivadas de la médula ósea. |
| | knockout CCR5 CCR5 (-/-) CCR5 (WT) | pMCAo | 2. Intensificación de las alteraciones de la función motora somatosensorial y la coordinación motora. 3. Aumento de la degeneración neuronal y cambios patológicos en la zona peri-infarto. | |
| Chen <i>et al.</i> 2020 [112] | Ratas macho Sprague Dawley (SD) | tMCAo | 1. Reducción del volumen de infarto. 2. Mejora del déficit neurológico. 3. Disminución del infiltrado de neutrófilos. | CCR5 aumenta significativamente en el cerebro isquémico. Por lo tanto, la deficiencia de su expresión se relaciona con la disminución del infiltrado de neutrófilos y atenúa la respuesta inflamatoria, reduciendo el volumen del infarto y mejorando la función neuroconductual. |

BBB: Blood Brain Barrer. BCCAo: Oclusión bilateral de la arteria carótida común. ET-1: Endotelina-1. I/R: Isquemia – Reperfusión. MKEY: Péptido cíclico sintético inhibidor de la formación de heterodímeros CXCR4-CCR5. pCCAo: Oclusión Permanente de la Arteria Carótida Común. pMCAo: Oclusión permanente de la arteria cerebral media. tBCCAo: Oclusión transitoria bilateral de la arteria carótida común. tMCAo: Oclusión transitoria de la arteria cerebral media. wt: Genotipo silvestre (Wild Type).

Tabla 3. Características de los estudios clínicos que evaluaron la asociación entre los polimorfismos de los genes CCR5 con el riesgo de ictus.

| Referencia (Autor, Año) | País (Etnia) | Diseño de estudio | Promedio edad, DS Masculino, n (%) | Polimorfismo genético | Resultados | Conclusiones |
|-------------------------------------|----------------------------|--|---------------------------------------|--|---|--|
| Afzal <i>et al.</i> , 2008 [113] | Italia (Bruneck) | Cohorte 810 | 61 ± 11 años 406 (50,1 %) | wt/wt 701 (86,5 %) wt/Δ32 102 (12,6 %) Δ32/Δ32 7 (0,9 %) | La frecuencia de CAD y la ECV fue menor en portadores del alelo Δ32 en comparación con los portadores homocigotos del alelo común (Δ32/Δ32 0%, wt/Δ32 1,0%, wt/wt 6,3%, $P=0,049$). | La mutación de CCR5-Δ32 presenta un efecto protector, los portadores cursan con niveles más bajos de CRP, disminución del grosor de la capa íntima-media de la arteria carótida y menor riesgo de ECV. |
| Ghilardi <i>et al.</i> , 2008 [114] | Italia (Caucásico) | Casos y controles 112/282 | 68 ± 2/65 ± 7 65,2 (66,9 %) | wt/wt 99 (88) wt/Δ32 12 (11) Δ32/Δ32 1 (1) | La frecuencia de CCR5-Δ32 fue similar en pacientes con oclusión de la arteria carótida interna, LAA y controles sanos. | No existe relación entre CCR5-Δ32 con la oclusión de la arteria carótida interna y el desarrollo de eventos isquémicos. |
| Kostulas <i>et al.</i> , 2009 [115] | Suecia (Caucásico) | Casos y controles 562/803 | 68 ± 9/58 ± 6 56 (69,6 %) | wt/wt 432 (77) wt/Δ32 124 (22) Δ32/Δ32 6 (1) | La frecuencia de CCR5-Δ32 fue menor en ictus cardioembólico (OR, 0.4; IC 95%, 0.24-0.79; $p=0.008$), que en LAA, SVD y subtipos criptogénicos. | CCR5-Δ32 ejerce un efecto protector contra el ictus subtipo cardioembólico en comparación con LAA, SVD y subtipos criptogénicos. |
| Zhao <i>et al.</i> , 2012 [116] | Norte de China (Han) | Casos y controles 3.119 (1.559/1560) | 59 ± 11/62 ± 11 1887 (60,5 %) | CCR5 (-2459) A>G Casos:43 % Controles: 46 % | La incidencia de ictus isquémico en pacientes hipertensos se asocia significativamente con CCR5 (-2459) A>G OR: 1.23 (IC 95%: 1.06 - 1.49; $P=0.007$). | El polimorfismo CCR5 (-2459) A>G, está asociado significativamente con el desarrollo de ictus isquémico en pacientes con hipertensión de la población Han de China. |
| Dinh <i>et al.</i> , 2015 [117] | Dinamarca (Caucásico) | Cohorte 15.206 donantes de sangre | 39 años 8028 (52,8 %) | wt/wt 11,867 (78,0 %) wt/Δ32 3156 (20,8 %) Δ32/Δ32 183 (1,2 %) | 46 participantes durante el seguimiento desarrollaron ictus, 35 eran portadores del alelo wt/wt y 11 portadores del alelo Δ32 (HR: 1,1; IC 95%: 0,56-2,19; $p=0.76$). | En esta cohorte, los portadores de CCR5-Δ32 tienen un riesgo significativamente mayor de padecer enfermedades cardiovasculares. |
| Joy <i>et al.</i> , 2019 [110] | Israel (Ashkenazi) | Cohorte 446 pacientes IS | 67 ± 9 años 252 (63,6 %) | wt/wt 328 (82,8%) wt/Δ32 64 (16,2%) Δ32/Δ32 4 (1%) | No hubo diferencias en la frecuencia de CCR5-Δ32 entre los subtipos de ictus. La recuperación motora gruesa, del lenguaje y sensorial fue significativamente mayor en los portadores desde el ingreso hasta los 6 meses ($p=0,024$) y 1 año ($p=0,007$) | Los portadores de la mutación natural CCR5-Δ32 mostraron una mayor recuperación motora y mejora de la función cognitiva después de un ictus isquémico |
| Palm <i>et al.</i> , 2020 [118] | Alemania (Caucásico) | Casos y controles 457/793 | 69 años 840 (67,2 %) | wt/wt 345 (75,5) wt/Δ32 107 (23,4) Δ32/Δ32 5 (1,1) | No hubo diferencias en la frecuencia de CCR5-Δ32 entre los casos y controles sanos | No existe relación entre CCR5-Δ32 con el riesgo de desarrollar ictus entre los portadores de la mutación. |

CCR5 Δ32= Polimorfismo Δ32 (delección de 32 pb) en el gen CCR5. IS= Ictus isquémico. SVD= Enfermedad de pequeños vasos. LAA= Ictus aterotrombótico o arteriosclerosis de arteria grande.

Tabla 4. Características de los estudios clínicos que evaluaron la asociación entre los polimorfismos del gen CCL5 con el riesgo de ictus.

| Referencia (Autor, Año) | País (Etnia) | Diseño de estudio | Promedio edad, DS Masculino, n (%) | Polimorfismo genético | Resultados | Conclusiones |
|---|-----------------------|----------------------------------|---------------------------------------|--|--|---|
| Yamaguchi <i>et al.</i> , (2006) [119] | Japón | Casos y controles 636/2069 | 67 ± 12/63 ± 12 1244 (45,98 %) | <u>CCL5 G-403A</u> (n= 394) | La frecuencia de CCL5 G-403A fue mayor en pacientes con ACI en comparación con el grupo control. La frecuencia de ACI en sujetos hipercolesterolemia se asoció significativamente con portadores de CCL5 G- 403 ^a (OR: 2,15; IC 95%: 1,36–3,39; p= 0,011). | El genotipo CCL5 G-403A se asoció significativamente con el desarrollo de ACI en sujetos con hipercolesterolemia. |
| Ghilardi <i>et al.</i> , 2008 [114] | Italia (Caucásico) | Casos y controles 112/282 | 68 ± 2/65 ± 7 65,2 (66,9 %) | <u>CCL5 G-403A</u> (n= 394) GG = 270 GA = 112 AA = 12 | La frecuencia de CCL5 G-403A fue similar en pacientes con oclusión de la ACI, LAA y controles sanos. El genotipo CCL5 G-403A se asoció con el incremento del grado de estenosis asociada con la oclusión de la ACI en la población de estudio (>70% OR: 2,45; IC 95%: 1,12–5,71; p= 0,015). | El genotipo CCL5 G-403A se asoció significativamente con la susceptibilidad y el curso clínico de la enfermedad por estenosis de la ACI, como factor de riesgo para el desarrollo de eventos isquémicos. |
| Um and Kim, 2009 [120] | República de Corea | Casos y controles 320/481 | 61 ± 14/61 ± 10 393 (49,1 %) | <u>CCL5 G-403A</u> (n= 320) GG = 115 (35,9 %) GA = 147 (45,9 %) AA = 58 (18,1 %) GG/GA = 262 (81,9 %) AA = 58 (18,1 %) | Se observó una diferencia significativa entre el grupo de pacientes y los controles en sujetos con el genotipo CCL5 AA en portadores de IL- 4 A3– (18,6% vs 13,1%, P= 0,035, OR = 1,5; IC 95%: 1,03-2,25). | El alelo CCL5 G-403A se relaciona con un aumento de la expresión génica y el incremento del riesgo relativo de isquemia cerebral en la población de estudio. |

Tabla 4. Continuación.

| Referencia (Autor, Año) | País (Etnia) | Diseño de estudio | Promedio edad, DS Masculino, n (%) | Polimorfismo genético | Resultados | Conclusiones |
|--------------------------------------|----------------------------|---------------------------------|---|--|---|--|
| Qin <i>et al.</i> , 2011 [121] | Norte de China (Han) | Casos y controles 314/389 | 64 ± 8/64 ± 7 181 (25,7 %) | CCL5 G-403A (n= 314) GG = (34,1 %) GA = (43,9 %) AA = (22,0 %) | La frecuencia del genotipo -403AA y el alelo -403A CCL5 en pacientes masculinos con ACI (P= 0,007) fueron significativamente más altas que en los controles sanos (P= 0,009). | El genotipo - 403AA y el alelo -403A de la región promotora de CCL5 se asociaron con un mayor riesgo de desarrollar ACI en hombres de la población de estudio. El genotipo - 28C/G de CCL5 no se asoció con el incremento del riesgo de ACI en la población de estudio. |
| | | | | Alelo A = (43,9 %) CCL5 C-28G (n= 314) CC = (79,6 %) CG = (19,1 %) GG = (1,27 %) Alelo G= (10,8 %) | El genotipo - 403AA en los hombres se asoció significativamente con un mayor riesgo de ACI (OR: 4,34; IC 95%: 1,96 – 9,58; P= < 0,001). El genotipo - 28C/G de CCL5 no se asoció con el incremento del riesgo de ACI en la población de estudio. | |
| Park <i>et al.</i> , (2013) [122] | Corea del Sur | Casos y controles 267/120 | 65 ± 12/63 ± 9 66 (55 %) /134 (50 %) | CCL5 -281C/T (rs2107538) C/C = 37 (30,8 %) C/T = 68 (56,7 %) T/T = 15 (12,5 %) | Los polimorfismos del gen CCL5 - 281C/T (rs2107538) no se asociaron con el incremento del riesgo de desarrollar IS. | Los polimorfismos del gen CCL5 - 281C/T (rs2107538) no se asociaron con el incremento del riesgo de IS. |

ACI= Infarto cerebral aterotrombótico. CCR5 Δ32= Polimorfismo Δ32 (delección de 32 pb) en el gen CCR5. IS= Ictus isquémico. SVD= Enfermedad de pequeños vasos. LAA= Ictus aterotrombótico o arteriosclerosis de arteria grande.

Tabla 5. Características de los estudios clínicos que evaluaron la asociación entre los niveles de CCL5 con el riesgo de ictus.

| Referencia (Autor, Año) | País | Diseño de estudio | Promedio edad, DS Masculino, n (%) | Niveles plasmáticos | Resultados | Conclusiones |
|---|--|---|---------------------------------------|---|---|--|
| Zaremba <i>et al.</i> , 2006 [123] | Polonia | Casos y controles 27/20 | 65,5 ± 6,9 | <u>CCL5 en pacientes</u> | La concentración plasmática de CCL5 en la primera semana después del ictus no difiere entre pacientes sintomáticos y controles sanos. Los niveles plasmáticos de CCL5 a las 48 horas después del SI se correlacionaron positivamente a los 28 días con el grado de discapacidad funcional medido por el BI (P= 0.045) durante la fase aguda. | Los niveles plasmáticos de CCL5 en pacientes con SI no aumentaron en las primeras 72 horas después del inicio del evento isquémico. Los niveles de CCL5 no son predictores del pronóstico clínico y de la evolución del SI. La correlación observada entre CCL5 y el BI, puede estar sesgada por la variabilidad interindividual, al no existir diferencias entre el grupo de pacientes vs controles sanos. |
| | | | | 24 horas 658,80 pg/ml (113,62–1420.07). | | |
| | | | | 48 horas 665,99 pg/ml (132,82–1464,59) | | |
| | | | | 72 horas 740,20 pg/ml (164,36–2022,80) | | |
| | | | | <u>CCL5 en Controles sanos</u> 701,99 pg/ml (455,30–988,75) | | |
| Montecucco <i>et al.</i> , 2010 [124] | Italia | Casos y controles 18/63 | 73 ± 9/70 ± 38 N= (60,3 %) | Pacientes sintomáticos (casos) 76,3 ng/ml (39.9 – 128.0) | Los niveles de plasmáticos de CCL5 se incrementaron en pacientes que desarrollaron SI vs controles sanos (p= 0,022). | Los niveles elevados de CCL5 circulantes no se asociaron con el riesgo de ictus isquémico en pacientes sintomáticos. |
| | | | | Pacientes asintomáticos (Control) 40,4 ng/ml (28.0 – 77.3) | No se observaron diferencias en la expresión génica de CCL5. | |
| | | | | | No hubo asociación entre los niveles elevados de CCL5 con el riesgo de IS en pacientes sintomáticos (OR: 1,01 IC 95%: 1,00 – 1,01; p= 0,066). | |
| Canoui-Poitrine <i>et al.</i> , 2011) [125] | France (Lille, Strasbourg, Toulouse) Irlanda del Norte (Belfast) | Estudio de casos y controles anidado 95/190 | 55,6 ± 2,9/55,5 ± 2.7 285 (100%) | Los pacientes con ictus tenían niveles elevados de CCL5 en 64,6 ng/ml (45,8 – 95,3) vs controles 52,7 ng/ml (32,6 – 74,8), P=: 0,021. | Los niveles de CCL5 se asociaron con ictus isquémico independientemente de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales, (HR: 1,70; IC 95%: 1,05–2,74; P= 0,032). | En hombres asintomáticos, los niveles sistémicos más altos de CCL5 son predictores independientes de ictus isquémico. |

Tabla 5. Continuación.

| Referencia (Autor, Año) | País | Diseño de estudio | Promedio edad, DS Masculino, n (%) | Niveles plasmáticos | Resultados | Conclusiones |
|---|----------------|--|---|--|--|---|
| Chalouhi <i>et al.</i> , 2013 [126] | Estados Unidos | Cross-sectional 16 pacientes | 55 ± 13 3 (18,75 %) | <u>Concentración media de CCL5 en las muestras obtenidas de aneurismas cerebrales en comparación con el plasma de las arterias femorales:</u> CCL5 (610,7 ± 224,7 vs 415,5 ± 154,9; P=0.003) | La concentración plasmática de CCL5 fue significativamente mayor en las muestras obtenidas de aneurismas cerebrales en comparación con el plasma de las arterias femorales | Las concentraciones elevadas de CCL5 en el lumen del aneurisma cerebral, parece promover reclutamiento activo de células inflamatorias en la pared del aneurisma, lo que lleva a la formación y ruptura del aneurisma cerebral. |
| Tokami <i>et al.</i> , 2013 [104] | Japón | Casos y controles 171/171 | NR | Los pacientes con ictus presentaron un incremento significativo de CCL5 al día 0 en plasma, con niveles promedio de 11,9 ± 7,3 ng/ml vs controles sanos 8,7 ± 5,1 ng/ml, P= < 0,001. | La concentración plasmática de CCL5 aumentó significativamente entre 50 y 100 veces el día 0 hasta el día 14 tras el ictus y estaban altamente correlacionadas con el aumento de la expresión de BDNF, EGF y VEGF. | CCL5 se produce a partir de neuronas después tras el ictus y tiene el potencial de proteger las neuronas directa o indirectamente a través de la producción de factores neurotróficos en áreas peri-ictus. |
| García-Berrocoso <i>et al.</i> , (2014) [127] | España | <u>Cohorte MISTIC</u> 20 pacientes con IS cortical <u>Cohorte rt-PA</u> 36 pacientes con IS ingresados < 4,5 h tras el ictus. | <u>Cohorte MISTIC</u> 74,1 (68,5 – 79,4) 10 (50 %) <u>Cohorte rt-PA</u> 78,5 (67,5 – 83,5) 21 (58,3 %) | Los niveles de CCL5 disminuyeron dentro de los vasos sanguíneos, cuando se comparó la región contralateral del cerebro con el tejido infartado (p= 0,043). No hubo cambios en los niveles plasmáticos de CCL5 desde el ingreso hasta los 90 días después del ictus (p= > 0,05). | 1. Disminución de los niveles de CCL5 en la zona infartada. 2. Los niveles plasmáticos de CCL5 no se relacionaron con la gravedad neurológica del ictus. | Los niveles de CCL5 en muestras microdisecionadas de tejido de cerebros isquémicos humanos disminuyeron en los vasos de la zona infartada. |
| Ahn <i>et al.</i> , 2019 [128] | Estados Unidos | Cohorte 60 pacientes | 52,2 ± 13 14 (23,3 %) | CCL5 a las 24 - 48 horas (t2), OR: 1,01; IC 95%: 1,003 – 1,019. CCL5 a los 3 – 5 días (t3), OR: 1,01; IC 95%: 1,002 – 1,023. | 1. Los niveles de CCL5 fueron consistentemente más altos, a las 48 horas y entre 3 – 5 días, después del evento isquémico en el grupo de pacientes. | Los niveles elevados de CCL5 fueron asociados de forma independiente con la predicción isquemia cerebral retardada. |

Tabla 5. Continuación.

| Referencia (Autor, Año) | País | Diseño de estudio | Promedio edad, DS Masculino, n (%) | Niveles plasmáticos | Resultados | Conclusiones |
|--|----------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---|---|
| Badacz <i>et al.</i> , 2019 [129] | Polonia | Cohorte 103 pacientes con ICAS | 68,4 ± 9,4 66 (64,1 %) | Población Total (n= 130) | Los niveles de CCL5 <45,5 ng/ml (HR: 3,95; IC95%: 1,10 - 14,2; P= 0.035), aumentan 3,8 veces más el riesgo de desarrollar un evento adverso isquémico coronario y carotídeo mayor. | Los niveles plasmáticos de CCL5 se asociaron con el riesgo de futuros eventos isquémicos adversos en otros territorios arteriales durante el período de seguimiento en la población de estudio. |
| | | | | 45,5 ng/ml (28,9 – 68,9) | | |
| | | | | Grupo MACCE (n= 15) | | |
| | | | | 25,8 ng/ml (15,8 – 62,7) | | |
| | | | | Grupo MACCE (n= 15) | | |
| 47,4 ng/ml (31,9 – 69,5) | | | | | | |
| Kong <i>et al.</i> , 2020 [130] | China | Cross- sectional 40 pacientes | 62 ± 8 33 (82.5%) | Población Total (n= 40) 33449 pg/mL (Q1 25446 pg/mL, Q3 49332 pg/mL) | Los niveles plasmáticos de CCL5 se relacionan de forma independiente con el grado de AS cardio-cerebral en pacientes con ICVD (r = 0,786, P <0,001). | Los niveles plasmáticos de CCL5 son un indicador independiente de carga, gravedad y extensión de la AS en arterias cervicocefálicas y coronarias en la ICVD. |
| Chaudhry <i>et al.</i> , 2020 [131] | Alemania | Casos y controles 80/41 | 58 ± 12 45 (37,5 %) | <u>CSF CCL5 al día 1 post-aSAH:</u> GOS: 43,81 pg/mL. (p = 0.021); mRS: 43,81 pg/mL (p = 0.011) | Los niveles de CCL5 en LCR y suero aumentaron significativamente en el día 1 y 7 después de aSAH en comparación con los pacientes de control. | Los niveles séricos y en LCR de CCL5 se elevaron después de aSAH y los niveles en suero del día 7 se asociaron de forma independiente con el resultado clínico (GOS y mRS) a la alta clínica. |
| | | | | <u>CCL5 suero al día 7 post-aSAH:</u> GOS: 18210 pg/mL. (p = 0.001); mRS: 18210 pg/mL (p = 0.002) | Los niveles de CCL5 en el LCR en el día 1 posterior a la aSAH se correlacionaron con un resultado clínico deficiente. | |
| | | | | | Los niveles de CCL5 en suero en el día 7 después de aSAH se correlacionaron con un buen resultado clínico. | |
| | | | | | | |

AS= Aterosclerosis. aSAH: Hemorragia subaracnoidea aneurismática. GOS= Escala de resultados de Glasgow. ICAS= Estenosis aterosclerótica intracraneal. ICVD= Enfermedad cerebrovascular isquémica. IS = ictus isquémico. mRS= Escala Rankin modificada. MACCE= Eventos adversos cardíacos y cerebrovasculares mayores (MACCE) NR= No reportado. TIA= Ataques Isquémicos Transitorios.

5. DISCUSIÓN

5.1. Evaluación en modelos animales del efecto de CCL5/CCR5 en la neuroinflamación en ictus.

Sin duda alguna, es clara la participación del receptor CCR5 en la neuroinflamación, desempeñando un papel decisivo en la regulación de los procesos inflamatorios, el control de la inflamación vascular y el reclutamiento de leucocitos a través de la BBB durante el daño neuronal. Este receptor media el aumento de la permeabilidad de la BBB y lesiones cerebrales secundarias a la infiltración de neutrófilos y macrófagos [18]. Los mecanismos involucrados en el efecto neuroprotector de CCR5 frente al daño neuronal después de la isquemia, aún siguen siendo en gran medida desconocidos. En relación con los posibles beneficios sistémicos del bloqueo de CCR5, no está claro, si la deficiencia de CCR5 en las células del cerebro o en las células periféricas del infiltrado inflamatorio derivadas de la médula ósea, son las responsables de la neuroprotección y la reparación del daño celular en la isquemia cerebral [110–112].

Sorce *et al.* (2010) describieron, en ratones KO con deficiencia de CCR5 a los 7 días después de la oclusión de la arteria cerebral media (MCAO), un incremento en el tamaño del infarto cerebral, con un aumento de la muerte neuronal en la zona afectada, además de una mayor infiltración de neutrófilos en el cerebro en comparación con los ratones sin la deficiencia. Por lo tanto, la eliminación de CCR5 agrava la lesión cerebral y la deficiencia neurológica después de la isquemia [66]. Sin embargo, en otras investigaciones realizadas por Li *et al.* (2016), Victoria *et al.* (2017), Li *et al.* (2017), los resultados obtenidos fueron contrarios a los descritos por Sorce *et al.*, concluyendo que la eliminación de CCR5 protege contra la lesión isquémica y el aumento de la deficiencia neurológica [105,107,108]. El estudio realizado por Victoria *et al.* describió en ratones CCR5 (-/-) una mejora del déficit neurológico y reducción del volumen de infarto secundario al daño por I/R. Además, los ratones CCR5 (-/-) en comparación con los ratones de tipo salvaje (wt/wt), tenían niveles cerebrales más altos del neuroprotector BDNF [107]. Por otra parte, Li *et al.* (2016), mediante un enfoque de supresión por antagonismo del CCR5

empleando el péptido Dala-1 T-amida (DAPTA), observaron una mejora del déficit neurológico y una disminución en el tamaño del infarto cerebral [105].

La actividad quimioatrayente del CCR5 podría ser el mecanismo biológico que explicaría el efecto neuroprotector que ejerce la inhibición de la expresión del CCR5 en el ictus. Debido a que la sobreexpresión del CCR5, secundaria a la lesión neuronal por I/R, incrementa la infiltración de células inmunitarias hacia el sitio de la lesión, daría lugar a daños tisulares y disrupción de la BBB. En ese sentido, Li *et al.* (2017) demostraron que el acoplamiento de células T reguladoras transferidas (Tregs), un subconjunto especial de células Th2, generalmente involucradas en la supresión de la inflamación en tejidos periféricos, es mediado por CCR5 y regulan negativamente la neuroinflamación, protegiendo contra la I/R cerebral. El posible mecanismo neuroprotector de CCR5 a través de Tregs consiste en la supresión inmune. En este mecanismo las células Tregs inhiben la producción de MMP-9 por parte de los neutrófilos periféricos, evitando así el daño proteolítico y la disrupción temprana de la BBB después del evento cerebrovascular, manifestándose así como un mecanismo protector frente a la I/R [108].

Las discrepancias entre los resultados anteriormente descritos pueden responder a la complejidad de los distintos mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios involucrados en la fisiopatología del ictus, y también a la variación de la respuesta neuroinflamatoria en los distintos modelos experimentales de ictus utilizados en los estudios citados. Además, los mecanismos moleculares subyacentes del CCR5, que ocurren después del evento isquémico, pueden ser dependientes del tipo celular que exprese el receptor. Recientemente Joy *et al.* (2019) describieron que los niveles de expresión de CCR5 en las neuronas en la zona cortical peri-infarto aumentan significativamente a las 12 horas tras el ictus y se mantienen con niveles variables hasta 28 días [110]. Estos resultados coinciden con el estudio previo de Tokami *et al.* (2013) que describieron la expresión marcada de CCR5 en el hemisferio isquémico, en neuronas del área peri-infarto un día después de la MCAO [104].

Un estudio preclínico realizado por Joy *et al.* (2019) evaluó el efecto neuroprotector de la supresión de CCR5 en ratones, mediante silenciamiento génico en neuronas de la corteza premotora y bloqueo farmacológico con maraviroc. La disminución de la actividad de CCR5 a través de maraviroc mejoró la recuperación motora después del accidente cerebrovascular en ratones, fuera medido 24 horas o 21 días después del ictus [110]. Sin embargo, Ping *et al.* (2020) obtuvieron resultados diferentes en ratones KO para CCR5, estos autores observaron que el aumento del tamaño de la zona del infarto se correlaciona con la deficiencia del receptor CCR5 en las células del cerebro y no con las células CCR5 derivadas de la médula ósea. Además, a los dos meses después de la isquemia, se observaron cambios patológicos en ratones CCR5 KO. Estos cambios incluían el aumento de las neuronas degenerativas, la disminución de las dendritas y sinapsis, la reducción de la mielinización y la presencia de oligodendrocitos en la corteza peri-infarto [111].

Finalmente, en un estudio realizado por Chen *et al.* (2020), en ratas con isquemia cerebral transitoria, se confirmó el papel del CCR5 en la migración de neutrófilos de la periferia hacia la zona peri-infarto. Este estudio demostró así la estrecha relación entre el CCR5 y la actividad quimioatrayente de neutrófilos desde la periferia hacia el sitio de la lesión, a través de la BBB, provocando su disrupción [112].

Actualmente se conoce que el CCL5, aparte de ser una quimioquina proinflamatoria relacionada con la enfermedad cardiovascular, en especial la aterosclerosis y otros procesos inflamatorios sistémicos, se relaciona también con la lesión tisular en el SNC y la activación de la cascada neuroinflamatoria, mediante la interacción con receptores tipo CCR1, CCR3 o CCR5 [66,68].

La inflamación secundaria a la lesión provocada por la isquemia durante el ictus se puede incrementar de acuerdo con el estado inflamatorio sistémico, que induce una sobreexpresión de CCL5 y una regulación positiva de la respuesta inflamatoria sistémica a través de CCL5 [103,104]. Sin embargo, el papel del CCL5 en la fisiopatología del ictus ha suscitado varias controversias, debido a la ambigüedad entre los resultados obtenidos por las distintas

investigaciones desarrolladas en los últimos veinte años, lo cual ha impedido emitir conclusiones definitivas sobre su papel en el ictus.

Bajo el mismo enfoque metodológico descrito en los estudios anteriores para el CCR5, también se ha empleado modelos experimentales de ictus, para estudiar el papel del CCL5 en el riesgo de desarrollar un evento isquémico y el pronóstico clínico tras el ictus.

Terao *et al.* (2008) observaron que el tamaño del infarto cerebral se reduce significativamente en ratones con deficiencia de CCL5. Estos, además, exhiben una función BBB mejorada después de una isquemia cerebral focal, en comparación con los ratones controles [100]. De manera similar, el trasplante de médula ósea de ratones knockout CCL5 a ratones de tipo salvaje redujo la lesión cerebral después de la isquemia cerebral [100]. Por lo tanto, estos resultados demuestran que la actividad de CCL5 se asocia con la infiltración de leucocitos en la lesión cerebral tras el ictus, provocando la interrupción de la BBB y la lesión del tejido del SNC inducida por I/R [100].

La edad es un factor de riesgo cardiovascular no modificable que puede tener efectos significativos en la fisiopatología del ictus. No obstante, pocos estudios han investigado el papel que tiene el envejecimiento en la respuesta inflamatoria periférica frente a las lesiones cerebrales durante y después del ictus. En un estudio realizado por Sieber *et al.*, (2011), los autores observaron que el perfil inflamatorio en el cerebro isquémico se alteraba significativamente con la edad y los niveles de CCL5 se elevaban en el cerebro de ratones envejecidos (24 meses) a las 48 h después de la MCAO en comparación con los ratones jóvenes adultos (2 meses). Sin embargo, en los ratones envejecidos los niveles postisquémicos de CCL5 tienden a disminuir progresivamente hasta 7 días después y el volumen del infarto tiende a ser más pequeño en los ratones más viejos [102].

A diferencia de los estudios anteriores, Wolinski and Glabinski (2013) evaluaron la expresión de CCL5 y su correlación con el desarrollo de la neurodegeneración durante la etapa inicial del modelo experimental de ictus, inducido mediante la aplicación de endotelina-1 en ratones. Los investigadores describieron un aumento de la expresión de CCL5 en la zona del tejido

afectado entre las 24 - 72 horas. Sin embargo, no hubo correlación entre el incremento de la expresión de CCL5 en la etapa inicial del modelo de ictus y la intensidad de la neurodegeneración, pero sí con la migración de linfocitos y macrófagos inflamatorios al cerebro. [103]. Por el contrario, Tokami *et al.* (2013) sí observaron un efecto neuroprotector de CCL5 en el ictus isquémico en ratones después de la MCAO [104].

Se ha descrito que CCL5 forma un heterodímero con CXCL4, una quimioquina del subgrupo CXC presente en los gránulos alfa de las plaquetas que es importante en la neuroinflamación. El heterodímero entre CXCL4-CCL5 aumenta su eficacia para estimular al CCR5, mejorando significativamente el efecto de CCL5 en la mediación de la adhesión y migración de monocitos durante la inflamación inducida por la isquemia y la lesión cerebral. En un estudio realizado por Fan *et al.* (2016), empleando un enfoque bajo la metodología de inhibición farmacológica del CXCL4-CCL5 en un modelo murino de ictus isquémico, se observó una disminución significativa del tamaño del infarto, así como una menor infiltración de leucocitos, mejorando el resultado neurológico a las 72 horas tras la isquemia [106].

El inhibidor MKEY es un péptido cíclico sintético basado en el CCL5 de ratón, que compite con CXCL4 por los sitios de unión de CCL5. De esta forma se libera el CXCL4 de los heterodímeros formados con el CCL5. El efecto neuroprotector de MKEY se debe a la inhibición de la infiltración cerebral de leucocitos hacia la zona de la lesión. Los resultados de Fan *et al.* describen una inhibición selectiva sobre la cantidad de macrófagos derivados de monocitos y neutrófilos infiltrantes, pero no tuvo ningún efecto sobre macrófagos derivados de microglía [106]. También se ha demostrado que el tratamiento con MKEY disminuye la formación de aneurismas aórticos abdominales modulando la inflamación, al suprimir la infiltración de monocitos a los tejidos aórticos [132].

El efecto neuroprotector de CCL5, evidenciado al suprimir su expresión en modelos experimentales de ictus, se debe a la disminución del infiltrado de leucocitos a través de la BBB hacia el área del infarto, la adhesión de plaquetas en la microvasculatura cerebral y a cambios en las concentraciones plasmáticas de ciertas citoquinas proinflamatorias potentes como son IL-6, IL-

10 e IL-12 [100]. En ese sentido, la inhibición de la actividad quimioatrayente de CCL5 promovida a través del receptor CCR5 podría conducir a la mejora de los síntomas postisquémicos, al evitar la acumulación de células inflamatorias de la periferia en el cerebro en la etapa temprana del ictus [103,104].

Por otro lado, se ha evidenciado que el CCL5 ejerce un efecto neuroprotector en la etapa temprana del ictus, cuando las células inflamatorias aún no se infiltran en áreas de infarto, al inducir la producción de moléculas neuroprotectoras (BDNF, VEGF y EGF) en neuronas, predominantemente en áreas peri-infarto, a través de receptores específicos neuronales después del evento isquémico. Lo que indica que el CCL5 puede funcionar de manera autocrina/paracrina en el cerebro en la fase aguda del ictus con efector protectores [104].

5.2. Evaluación de la asociación entre los polimorfismos de los genes CCR5 con el riesgo de ictus.

Los estudios de genética humana del gen CCR5 están orientados a la evaluación de la relación entre los polimorfismos naturales en el gen y el riesgo de desarrollar un evento isquémico o tener un mejor pronóstico clínico tras el ictus. Se han identificado particularmente dos polimorfismos en el receptor CCR5 asociados a estas condiciones, principalmente una delección de 32 pares de bases 32bp [Delta 32, $\Delta 32$, rs333] en el marco de lectura abierto y la sustitución 2459G> A en la región promotora [110,116].

En ese sentido, si el riesgo para desarrollar un ictus está determinado por el estado inflamatorio no solo de la pared vascular, sino también a nivel sistémico y además la oclusión de una de las arterias carótidas interna es una causa importante de ictus, evaluar la frecuencia de CCR5- $\Delta 32$ y estimar el riesgo de desarrollar un evento isquémico en pacientes con ACI, ECVI y población sana, ofrece un escenario natural para comprender en mejor medida los hallazgos obtenidos con modelos animales, sobre la reducción de la actividad del receptor CCR5 y el efecto neuroprotector o agravante de la lesión cerebral y la deficiencia neurológica tras el ictus.

En un estudio realizado por Afzal *et al.* (2008) en una cohorte de pacientes de Italia (n=810), el alelo CCR5- $\Delta 32$ presentó un efecto protector: los

portadores presentaban niveles más bajos de PCR, disminución del grosor de la capa íntima-media de la arteria carótida y baja susceptibilidad a la enfermedad arterial coronaria, y a la enfermedad cardiovascular incidente [113]. Por el contrario, Ghilardi *et al.* (2008) en un estudio de casos y controles de procedencia italiana (n=394), no encontraron relación entre CCR5- Δ 32 y la oclusión de la arteria carótida interna o el desarrollo de ictus [114]. Sin embargo, Kostulas *et al.* (2009) en un estudio de casos y controles de Suecia (n=1365), vieron que el alelo CR5 Δ 32 ejerce en los portadores un efecto protector contra el ictus cardioembólico [115]. Por otro lado, Zhao *et al.* (2012) evaluaron la frecuencia de ictus isquémico en pacientes con hipertensión y su asociación con el polimorfismo CCR5 (-2459) A>G, en sujetos de procedencia asiática (n=3.119). Estos autores observaron que la incidencia de ictus isquémico en pacientes hipertensos se asocia significativamente con CCR5 (-2459) A>G [116].

En el estudio de Dinh *et al.* (2015), en una cohorte de donantes de sangre (n=15.206) de Dinamarca, se identificó que durante el seguimiento 46 participantes desarrollaron ictus y 11 de ellos eran portadores del polimorfismo CCR5- Δ 32 [117]. En otro estudio realizado por Joy *et al.* (2019), en una cohorte de 446 pacientes de Tel Aviv (Israel), se encontró que 68 (15,2%) eran portadores del polimorfismo CCR5- Δ 32. Los portadores del polimorfismo tenían un mejor pronóstico clínico y mostraron una mayor recuperación motora, mejora de la función cognitiva y funcional desde el ingreso tras el evento isquémico, hasta los 6 meses y 1 año de seguimiento [110].

Finalmente, en un estudio de casos y controles realizado por Palm *et al.* (2020), en sujetos de procedencia alemana, no hubo diferencias en la frecuencia de CCR5- Δ 32 entre los casos y controles sanos. Los portadores de la mutación no mostraron mayor riesgo de desarrollar ictus [118].

5.3. Asociación entre los polimorfismos del gen CCL5 con el riesgo de ictus

Debido a que el CCL5 es una quimioquina proinflamatoria sistémica representativa y a que se han demostrado correlaciones significativas entre los niveles de CCL5 y la progresión de la placa aterosclerótica, el papel del gen

CCL5 en el ictus parece ser relevante, ya que la respuesta inflamatoria sistémica es un factor que podría aumentar el volumen de la lesión microvascular en el cerebro en un evento cerebrovascular isquémico. Sin embargo, el papel del gen CCL5 en el ictus es aún controvertido, por los resultados contradictorios entre los distintos estudios realizados han que explorado la asociación entre las variantes -28 C/G (rs2107538) y -403G/A del gen CCL5, y el riesgo de desarrollar un evento isquémico cerebrovascular [114,119–122].

En un estudio clínico realizado por Yamaguchi *et al.* (2006), en una población japonesa (n= 636), se demostró que el polimorfismo -403 G/A de CCL5 se asoció con infarto cerebral aterotrombótico (ACI) en sujetos con hipercolesterolemia [119]. Ghilardi *et al.* (2008) indicaron, para el genotipo CCL5 G-403A en población italiana (n= 394), una asociación significativa con la susceptibilidad y el curso clínico de la enfermedad por estenosis de la ACI, como factor de riesgo para el desarrollo de un evento isquémico cerebrovascular [114]. Mientras que en un estudio realizado por Um *et al.* (2009), en una población coreana (n= 320), se demostró que el polimorfismo CCL5 G-403A aumenta la expresión de CCL5 e incrementa el riesgo asociado con el desarrollo de ictus [120]. Hallazgos similares fueron reportados por Qin *et al.* (2011), en una población masculina de la etnia Han del norte de China (n= 314), demostrando que la variante homocigota -403AA está asociada con un mayor riesgo de desarrollar un evento isquémico cerebral [121]. En contraste, Qin *et al.* (2011) y Park *et al.* (2013) no encontraron asociación entre el polimorfismo CCL5 -281C/T (rs2107538) con el incremento del riesgo de desarrollar un evento isquémico [121,122].

La posible susceptibilidad al ictus conferida por la variante CCL5 G-403A podría estar relacionada con el aumento del infiltrado de leucocitos hacia el tejido dañado o inflamado, como la placa aterosclerótica; lo que promueve un estado inflamatorio sistémico, debido a que este polimorfismo ejerce una regulación positiva y promueve la sobreexpresión de CCL5 y a la vez la actividad quimioatrayente [120–122]. De hecho, los ratones deficientes en el gen CCL5 muestran significativamente menos infiltrado leucocitario en sitios

proinflamatorios a nivel sistémico o en la lesión isquémica, disminuyendo el volumen del infarto y conservando la integridad de la BBB [100].

5.4. Asociación entre los niveles de CCL5 con el riesgo de desarrollar ictus.

Las investigaciones realizadas en este enfoque plantearon inicialmente que la medición de los niveles plasmáticos de CCL5 podrían ser predictores clínicos del riesgo de desarrollar ictus y del curso clínico después del evento isquémico.

Zaremba *et al.* (2006) indicaron que los niveles plasmáticos de CCL5 no aumentaban en la primera semana después del evento cerebrovascular isquémico entre pacientes sintomáticos y controles sanos [123]. Sin embargo, los niveles séricos de CCL5 a las 48 horas después del ictus se correlacionaron positivamente a los 28 días con el Índice de Barthel [123]. Por otro lado, en un estudio clínico realizado por Montecucco *et al.* (2010) se comunicó que los niveles plasmáticos de CCL5 aumentaban en los primeros 30 días después del evento agudo en pacientes sintomáticos en comparación con pacientes asintomáticos [124]. Otros investigadores Canoui-Poitrine *et al.* (2011) también demostraron que los niveles séricos elevados de CCL5 constituyen un factor pronóstico independiente para desarrollar ictus en hombres asintomáticos [125].

Chalouhi *et al.* (2013) evaluaron los niveles de CCL5 en sangre extraída directamente del microambiente local del lumen de un aneurisma cerebral no roto en comparación con la concentración en sangre extraída de la arteria femoral (circulación sistémica). Los autores observaron una concentración significativamente mayor de CCL5 en muestras de sangre aneurismática [126]. Por otro lado, en el estudio realizado por García-Berrocó *et al.* (2014) observaron un descenso en los niveles de CCL5 a nivel de los vasos sanguíneos en muestras microdiseccionadas de tejido cerebral de la zona infartada, en comparación con la región contralateral del cerebro [127].

En un estudio clínico realizado por Badacz *et al.* (2019) se identificó que el incremento progresivo de los niveles de CCL5 en condiciones de aterosclerosis en pacientes con ECVI, aumentan 3,8 veces más el riesgo de desarrollar un evento adverso isquémico coronario y carotídeo mayor [129]. En un estudio reciente Ahn *et al.* (2019) también ha demostrado que los niveles plasmáticos

de CCL5 se elevan dentro de las 24 a 48 h hasta por 3 a 5 días después de la hemorragia subaracnoidea aneurismática (aSAH) [128]. Estos hallazgos fueron confirmados posteriormente por Chaudhry *et al.* (2020). Estos autores identificaron que los niveles elevados de CCL5 en líquido cefalorraquídeo y en la circulación sistémica son un biomarcador predictivo del resultado clínico después de una aSAH [131]. Resultados similares fueron reportados por Kong *et al.*, (2020), determinando que los niveles de CCL5 en plasma se correlacionan con la carga de aterosclerosis cardio-cerebral en pacientes con enfermedad cerebrovascular isquémica [130].

6. CONCLUSIONES

A partir de la búsqueda bibliográfica sistemática realizada se identificaron 307 artículos relacionados con los términos de búsqueda, de los cuales solo 32 artículos cumplieron con los criterios de inclusión. En el grupo de artículos que realizaron experimentos en modelos animales se incluyeron 13 artículos que utilizaron modelos de isquemia con ratones KO y WT para los genes de CCL5/CCR5. Un total de 12 artículos evaluaron la frecuencia de los polimorfismos en los genes CCL5/CCR5 en pacientes con ictus o población en riesgo y 10 artículos evaluaron los niveles plasmáticos o cerebrales de CCL5 en pacientes con ictus.

La lectura crítica y el análisis cualitativo de los artículos seleccionados permitió emitir las siguientes conclusiones con relación al papel de CCL5/CCR5 en la fisiopatología del ictus:

1. La evidencia recopilada de los estudios en modelos animales evidenció una discrepancia sobre el efecto de la deficiencia de CCR5 en la fisiopatología del ictus. Se observó en dos estudios que la ausencia de CCR5 agrava la lesión cerebral y las alteraciones neurológicas tras el ictus. Por otro lado, cuatro artículos describieron que la ausencia de CCR5, o la supresión farmacológica con DAPTA o maraviroc, protege contra la isquemia cerebral, conduce a una mejora del déficit neurológico y a la reducción del volumen de infarto.
2. La expresión de CCR5 aumenta significativa y diferencialmente en neuronas y microglía en el cerebro isquémico. En la fase aguda del ictus la expresión de CCR5 en neuronas de la zona cortical peri-infarto aumenta significativamente hasta las 24 horas y se mantienen elevadas hasta 28 días post-isquemia.
3. Las discrepancias observadas entre los resultados anteriormente descritos sobre el efecto neuroprotector o agravante de la supresión de CCR5 en la lesión por I/R pueden responder a que los distintos mecanismos moleculares mediados por CCR5 tras el evento isquémico son dependientes del tipo de célula que exprese el receptor. Sin embargo, aún no está claro si la deficiencia de CCR5 en las células del cerebro o en las

células periféricas del infiltrado inflamatorio derivadas de la médula ósea son las responsables de la neuroprotección y la reparación del daño celular en la I/R.

4. Los cinco artículos que evaluaron los niveles de CCL5 en la fase tardía (24-72 h) en modelos murinos de oclusión (BCCAO, MCAO) describieron un incremento significativo de esta quimioquina tras el ictus. En estas condiciones, el aumento de la expresión de CCL5 es una respuesta neuroinflamatoria secundaria a la lesión por I/R, con capacidad quimioatrayente de leucocitos, macrófagos y neutrófilos al cerebro a través de la BBB, lo que lleva a la expansión del volumen del infarto cerebral y al déficit neurológico.
5. Sin embargo, en el estudio con inducción del ictus mediante ET-1 no hubo correlación entre el incremento de la expresión de CCL5 en la fase temprana del ictus y la intensidad de la neurodegeneración. Por ello, parece que el aumento de la expresión de CCL5 en fases iniciales ejerce efectos distintos de los que suceden en fases posteriores.
6. También se ha visto que el aumento y la expresión diferencial de CCL5/CCR5, en neuronas del área peri-infarto del hemisferio isquémico en las primeras 24 horas antes del inicio de la infiltración de leucocitos, se relaciona con la producción de factores neurotróficos (BDNF, VEGF y EGF) en neuronas cercanas, que está mediada por CCR5. Esto indica que el CCL5 puede funcionar de manera autocrina/paracrina en el cerebro y proteger las neuronas directa o indirectamente en la fase aguda del ictus.
7. La inhibición de la actividad quimioatrayente del eje CCL5/CCR5 en modelos murinos con deficiencia de CCL5, o mediante la administración del inhibidor MKEY, ejerce un efecto neuroprotector ante el daño por I/R. La neuroprotección se relaciona con la disminución de la infiltración de células inflamatorias que atraviesan la BBB hacia el área del infarto en la etapa temprana del ictus. También se relaciona con la disminución de la adhesión plaquetaria con la microvasculatura cerebral y por inducir una regulación negativa de las concentraciones plasmáticas de otras citoquinas proinflamatorias potentes como son IL-6, IL-10 e IL-12.

8. Los portadores de la variación genética CCR5-Δ32 presentan un efecto protector frente al riesgo de padecer ictus, cursan con niveles más bajos de CRP, y disminución del grosor de la capa íntima-media de la arteria carótida. En pacientes portadores de la mutación se observa una mayor recuperación motora y mejora de la función cognitiva tras desarrollar un ictus isquémico. Por el contrario, la variante CCR5 (-2459) A>G está asociada con el desarrollo de ictus isquémico en pacientes con hipertensión.
9. Los portadores del genotipo CCL5 G-403A tienen entre 2 a 4 veces más riesgo de padecer un ictus. La frecuencia del genotipo se asoció significativamente con hipercolesterolemia, estenosis de la ACI y el sexo masculino. En cambio, los polimorfismos - 28C/G y - 281C/T no se asociaron con el incremento del riesgo de padecer ictus.
10. Los niveles plasmáticos de CCL5 en pacientes que desarrollaron ictus fueron consistentemente más elevados entre las 24 y 72 horas tras el inicio del evento isquémico en comparación con los controles sanos. Sin embargo, hay varios estudios con resultados contradictorios con respecto a la asociación entre los niveles plasmáticos de CCL5 con el riesgo de desarrollar ictus y el pronóstico clínico a corto plazo. Los factores que pueden contribuir a que los resultados no sean comparables son: bajo tamaño de la muestra, el diseño de estudio empleado, poblaciones con diferentes subtipos de ictus, la selección de grupos control sin el adecuado ajuste por edad, sexo u otras variables de confusión, tiempos de recolección de las muestras en la fase aguda, tipo de muestra, métodos de medición ó puntos de corte de referencia.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Feigin VL, Norrving B, Mensah GA. Global Burden of Stroke. *Circ Res* 2017;120:439–48. <https://doi.org/10.1161/circresaha.116.308413>.
- [2] Feigin V, Roth G, Naghavi M, Parmar P, Krishnamurthi R, Chugh S, et al. Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Neurology* 2016;15:913–24. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(16\)30073-4](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(16)30073-4).
- [3] Alexandru R, Terecoasă E, Băjenaru O, Tiu C. Etiologic classification of ischemic stroke: Where do we stand? *Clin Neurol Neurosur* 2017;159:93–106. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2017.05.019>.
- [4] Zhang Z, Wang Q, Yao J, Zhou X, Zhao J, Zhang X, et al. Chemokine Receptor 5, a Double-Edged Sword in Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease. *Front Pharmacol* 2020;11:146. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00146>.
- [5] Cheng J, Oemrawsingh R, Akkerhuis K, Garcia-Garcia H, Boer Spm, Battes L, et al. Circulating chemokines in relation to coronary plaque characteristics on radiofrequency intravascular ultrasound and cardiovascular outcome. *Biomarkers* 2014;19:611–9. <https://doi.org/10.3109/1354750x.2014.957725>.
- [6] Koper-Lenkiewicz O, Kamińska J, Lisowska A, Milewska A, Hirnle T, Dymicka-Piekarska V. Factors Associated with RANTES Concentration in Cardiovascular Disease Patients. *Biomed Res Int* 2019;2019:1–11. <https://doi.org/10.1155/2019/3026453>.
- [7] Stone M, Hayward J, Huang C, Huma Z, Sanchez J. Mechanisms of Regulation of the Chemokine-Receptor Network. *Int J Mol Sci* 2017;18:342. <https://doi.org/10.3390/ijms18020342>.
- [8] Mizuma A, Yenari MA. Anti-Inflammatory Targets for the Treatment of Reperfusion Injury in Stroke. *Front Neurol* 2017;8:467. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00467>.
- [9] Czepluch F, Kuschicke H, Dellas C, Riggert J, Hasenfuss G, Schäfer K. Increased proatherogenic monocyte–platelet cross-talk in monocyte subpopulations of patients with stable coronary artery disease. *J Intern Med* 2014;275:144–54. <https://doi.org/10.1111/joim.12145>.
- [10] Simats A, García-Berrocoso T, Montaner J. Neuroinflammatory biomarkers: From stroke diagnosis and prognosis to therapy. *Biochimica Et Biophysica Acta Bba - Mol Basis Dis* 2016;1862:411–24. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.10.025>.
- [11] Sacco R, Kasner S, Broderick J, Caplan L, Connors J, Culebras A, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke J Cereb Circulation* 2013;44:2064–89. <https://doi.org/10.1161/str.0b013e318296aeca>.
- [12] Campbell BCV, Silva DAD, Macleod MR, Coutts SB, Schwamm LH, Davis SM, et al. Ischaemic stroke. *Nat Rev Dis Primers* 2019;5:70. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0118-8>.
- [13] Martínez-Vila E, Fernández MM, Pagola I, Irimia P. Enfermedades cerebrovasculares. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* 2011;10:4871–81.
- [14] Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Hennerici MG. Classification of Stroke Subtypes. *Cerebrovasc Dis* 2009;27:493–501. <https://doi.org/10.1159/000210432>.
- [15] Cabañas RG, Salas BYG, Suárez OV. El ABC del accidente cerebro vascular en la tomografía computarizada de cráneo. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias* 2018;17:19–35.
- [16] Arteaga J, Paredes A, Peñate CM. Perfil clínico imagenológico de la Enfermedad Cerebrovascular Isquémica. Hospital “Abel Santamaría Cuadrado”. *Rev Electrónica de Portales Medicos* 2007.
- [17] Leal JS. Protocolo de diagnóstico y atención del ictus en urgencias. *Medicine - Programa De Formación Médica Continuada Acreditado* 2019;12:4124–9. <https://doi.org/10.1016/j.med.2019.01.006>.
- [18] Zhu H, Wang Z, Yu J, Yang X, He F, Liu Z, et al. Role and Mechanisms of Cytokines in the Secondary Brain Injury After Intracerebral Hemorrhage. *Prog Neurobiol* 2019;178:101610. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.03.003>.
- [19] Hostettler I, Seiffge D, Werring D. Intracerebral hemorrhage: an update on diagnosis and treatment. *Expert Rev Neurother* 2019;19:1–16. <https://doi.org/10.1080/14737175.2019.1623671>.
- [20] Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci* 2017;38:1167–86. <https://doi.org/10.1007/s10072-017-2938-1>.
- [21] Vena AB, Cabré X, Piñol R, Molina J, Purroy F. Evaluación de la incidencia y tendencia de la enfermedad cerebrovascular en la región sanitaria de Lleida (España) en el periodo 2010-2014. *Neurología* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2019.10.012>.
- [22] (IHME) I for HM and E. GBD Compare, Seattle, WA: IHME, University of Washington 2015.

- [23] Krishnamurthi RV, Ikeda T, Feigin VL. Global, Regional and Country-Specific Burden of Ischaemic Stroke, Intracerebral Haemorrhage and Subarachnoid Haemorrhage: A Systematic Analysis of the Global Burden of Disease Study 2017. *Neuroepidemiology* 2020;54:171–9. <https://doi.org/10.1159/000506396>.
- [24] Béjot Y, Bailly H, Durier J, Giroud M. Epidemiology of stroke in Europe and trends for the 21st century. *La Press Médicale* 2016;45:e391–8. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2016.10.003>.
- [25] Luengo-Fernandez R, Violato M, Candio P, Leal J. Economic burden of stroke across Europe: A population-based cost analysis. *European Stroke J* 2019;5:17–25. <https://doi.org/10.1177/2396987319883160>.
- [26] García A, Bernabeu M, Laxe S, Sánchez D, Saurí J. Medicina personalizada para tratar el ictus. *Sobre Ruedas* 2018;34–8.
- [27] Ekker MS, Verhoeven JI, Vaartjes I, Nieuwenhuizen KM van, Klijn CJM, Leeuw F-E de. Stroke incidence in young adults according to age, subtype, sex, and time trends. *Neurology* 2019;92:e2444–54. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000007533>.
- [28] Boot E, Ekker MS, Putaala J, Kittner S, Leeuw F-ED, Tuladhar AM. Ischaemic stroke in young adults: a global perspective. *J Neurology Neurosurg Psychiatry* 2020;91:411. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-322424>.
- [29] Díaz-Guzmán J, Egido J-A, Gabriel-Sánchez R, Barberá-Comes G, Fuentes-Gimeno B, Fernández-Pérez C. Stroke and Transient Ischemic Attack Incidence Rate in Spain: The IBERICTUS Study. *Cerebrovasc Dis* 2012;34:272–81. <https://doi.org/10.1159/000342652>.
- [30] García AP. Diagnóstico y manejo del ictus. *Revista Española De* 2017;73:6–11.
- [31] Muñoz-Pérez MJ, Espinosa-Villaseñor D. Deterioro cognitivo y demencia de origen vascular. *Revista Mexicana de Neurociencia* 2016;17:85–96.
- [32] Mata M, Marzo M, Almazán C, Badellino J, Padilla V. Factores pronósticos en el ictus. De la fase aguda a los tres años. *Rehabilitación* 2011;45:18–23. <https://doi.org/10.1016/j.rh.2010.09.004>.
- [33] Cano MG, Gómez-Hontanilla M, Gómez-Fernández I. Factores influyentes en el pronóstico funcional tras sufrir un ictus. *Revista Científica De La Sociedad Española De Enfermería Neurológica* 2016;43:17–22. <https://doi.org/10.1016/j.sedene.2015.10.002>.
- [34] Sun Z, Yue Y, Leung CCH, Chan MTV, Gelb AW, Wu AS, et al. Clinical diagnostic tools for screening of perioperative stroke in general surgery: a systematic review. *Bja Br J Anaesth* 2016;116:328–38. <https://doi.org/10.1093/bja/aev452>.
- [35] López-Espuela F, Pedrera-Zamorano JD, Jiménez-Caballero PE, Ramírez-Moreno JM, Portilla-Cuenca JC, Lavado-García JM, et al. Functional Status and Disability in Patients After Acute Stroke: A Longitudinal Study. *Am J Crit Care* 2016;25:144–51. <https://doi.org/10.4037/ajcc2016215>.
- [36] Montaner J, Ramiro L, Simats A, Tiedt S, Makris K, Jickling GC, et al. Multilevel omics for the discovery of biomarkers and therapeutic targets for stroke. *Nat Rev Neurol* 2020;16:247–64. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0350-6>.
- [37] Monbailliu T, Goossens J, Hachimi-Idrissi S. Blood protein biomarkers as diagnostic tool for ischemic stroke: a systematic review. *Biomark Med* 2017;11:503–12. <https://doi.org/10.2217/bmm-2016-0232>.
- [38] SERRANO-PONZ M, RODRIGO-GASQUÉ C, SILES E, MARTÍNEZ-LARA E, OCHOA-CALLEJERO L, MARTÍNEZ A. Temporal profiles of blood pressure, circulating nitric oxide, and adrenomedullin as predictors of clinical outcome in acute ischemic stroke patients. *Mol Med Rep* 2016;13:3724–34. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5001>.
- [39] Egea-Guerrero JJ, Murillo-Cabezas F, Rodríguez-Rodríguez A, Gordillo-Escobar E, Revuelto-Rey J, Muñoz-Sánchez MA, et al. Modelo experimental de lesión cerebral tipo masa en rata: expresión del daño cerebral mediante enolasa neuroespecífica y proteína S100B. *Med Intensiva* 2014;38:218–25. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2013.03.015>.
- [40] Ustrell-Roig X, Serena-Leal J. Ictus. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades cerebrovasculares. *Revista Española De Cardiol* 2007;60:753–69. <https://doi.org/10.1157/13108281>.
- [41] Saver J, Goyal M, Lugo A, Menon B, Majoie C, Dippel D, et al. Time to Treatment With Endovascular Thrombectomy and Outcomes From Ischemic Stroke: A Meta-analysis. *Jama* 2016;316:1279–88. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.13647>.
- [42] Armario P, Pinto X, Soler C, Cardona P. Prevención secundaria del ictus isquémico no cardioembólico. *Clínica E Investigación En Arteriosclerosis* 2015;27:287–300. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2015.01.006>.
- [43] Dirnagl U. Pathobiology of injury after stroke: the neurovascular unit and beyond. *Ann Ny Acad Sci* 2012;1268:21–5. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06691.x>.
- [44] Blochet C, Buscemi L, Clément T, Gehri S, Badaut J, Hirt L. Involvement of caveolin-1 in neurovascular unit remodeling after stroke: Effects on neovascularization and astrogliosis. *J Cereb Blood Flow Metabolism* 2018;40:163–76. <https://doi.org/10.1177/0271678x18806893>.
- [45] Muoio V, Persson PB, Sendeski MM. The neurovascular unit – concept review. *Acta Physiol* 2014;210:790–8. <https://doi.org/10.1111/apha.12250>.

- [46] Sweeney MD, Kisler K, Montagne A, Toga AW, Zlokovic BV. The role of brain vasculature in neurodegenerative disorders. *Nat Neurosci* 2018;21:1318–31. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0234-x>.
- [47] Yu X, Ji C, Shao A. Neurovascular Unit Dysfunction and Neurodegenerative Disorders. *Front Neurosci-Switz* 2020;14:334. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00334>.
- [48] Maki T, Hayakawa K, Pham L-DD, Xing C, Lo EH, Arai K. Biphasic Mechanisms of Neurovascular Unit Injury and Protection in CNS Diseases. *Cns Neurological Disord - Drug Targets* 2013;12:302–15. <https://doi.org/10.2174/1871527311312030004>.
- [49] Lécuyer M-A, Kebir H, Prat A. Glial influences on BBB functions and molecular players in immune cell trafficking. *Biochimica Et Biophysica Acta Bba - Mol Basis Dis* 2016;1862:472–82. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.10.004>.
- [50] Jayaraj RL, Azimullah S, Beiram R, Jalal FY, Rosenberg GA. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke. *J Neuroinflamm* 2019;16:142. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1516-2>.
- [51] Sweeney MD, Ayyadurai S, Zlokovic BV. Pericytes of the neurovascular unit: key functions and signaling pathways. *Nat Neurosci* 2016;19:771–83. <https://doi.org/10.1038/nn.4288>.
- [52] Chen J, Zhang JH, Hu X. *Non-Neuronal Mechanisms of Brain Damage and Repair After Stroke*. Springer; 2016. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-32337-4>.
- [53] Petrovic-Djergovic D, Goonewardena SN, Pinsky DJ. Inflammatory Disequilibrium in Stroke. *Circ Res* 2016;119:142–58. <https://doi.org/10.1161/circresaha.116.308022>.
- [54] Cai W, Zhang K, Li P, Zhu L, Xu J, Yang B, et al. Dysfunction of the neurovascular unit in ischemic stroke and neurodegenerative diseases: An aging effect. *Ageing Res Rev* 2017;34:77–87. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.09.006>.
- [55] Sifat AE, Vaidya B, Abbruscato TJ. Blood-Brain Barrier Protection as a Therapeutic Strategy for Acute Ischemic Stroke. *Aaps J* 2017;19:957–72. <https://doi.org/10.1208/s12248-017-0091-7>.
- [56] Mastorakos P, McGavern D. The anatomy and immunology of vasculature in the central nervous system. *Sci Immunol* 2019;4:eaav0492. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aav0492>.
- [57] Pawluk H, Woźniak A, Grześk G, Kołodziejaska R, Kozakiewicz M, Kopkowska E, et al. <p>The Role of Selected Pro-Inflammatory Cytokines in Pathogenesis of Ischemic Stroke</p>. *Clin Interv Aging* 2020;Volume 15:469–84. <https://doi.org/10.2147/cia.s233909>.
- [58] Zoppo GJ del. Relationship of Neurovascular Elements to Neuron Injury during Ischemia. *Cerebrovasc Dis* 2009;27:65–76. <https://doi.org/10.1159/000200442>.
- [59] Ayloo S, Gu C. Transcytosis at the blood-brain barrier. *Curr Opin Neurobiol* 2019;57:32–8. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.12.014>.
- [60] Barichello T, Collodel A, Hasbun R, Morales R. Blood-Brain Barrier 2019:1–8. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8946-1>.
- [61] Wang X, Xuan W, Zhu Z, Li Y, Zhu H, Zhu L, et al. The evolving role of neuro-immune interaction in brain repair after cerebral ischemic stroke. *Cns Neurosci Ther* 2018;24:1100–14. <https://doi.org/10.1111/cns.13077>.
- [62] Puig B, Brenna S, Magnus T. Molecular Communication of a Dying Neuron in Stroke. *Int J Mol Sci* 2018;19:2834. <https://doi.org/10.3390/ijms19092834>.
- [63] Baeten KM, Akassoglou K. Extracellular matrix and matrix receptors in blood–brain barrier formation and stroke. *Dev Neurobiol* 2011;71:1018–39. <https://doi.org/10.1002/dneu.20954>.
- [64] Ao L, Yan Y-Y, Zhou L, Li C, Li W-T, Fang W, et al. Immune Cells After Ischemic Stroke Onset: Roles, Migration, and Target Intervention. *J Mol Neurosci* 2018;66:342–55. <https://doi.org/10.1007/s12031-018-1173-4>.
- [65] Mirabelli-Badenier M, Braunersreuther V, Viviani G, Dallegri F, Quercioli A, Veneselli E, et al. CC and CXC chemokines are pivotal mediators of cerebral injury in ischaemic stroke. *Thromb Haemostasis* 2011;105:409–20. <https://doi.org/10.1160/th10-10-0662>.
- [66] Sorce S, Myburgh R, Krause K-H. The chemokine receptor CCR5 in the central nervous system. *Prog Neurobiol* 2011;93:297–311. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.12.003>.
- [67] Guernon J, Combadière C. Role of chemokines polymorphisms in diseases. *Immunol Lett* 2012;145:15–22. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2012.04.010>.
- [68] Jaerve A, Müller HW. Chemokines in CNS injury and repair. *Cell Tissue Res* 2012;349:229–48. <https://doi.org/10.1007/s00441-012-1427-3>.
- [69] Navratilova Z. Polymorphisms in CCL2&CCL5 chemokines/chemokine receptors genes and their association with diseases. *Biomed Pap* 2006;150:191–204. <https://doi.org/10.5507/bp.2006.028>.
- [70] Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, Freedman JE. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. *Circ Res* 2018;122:337–51. <https://doi.org/10.1161/circresaha.117.310795>.
- [71] Solloch U, Lang K, Lange V, Böhme I, Schmidt A, Sauter J. Frequencies of gene variant CCR5-Δ32 in 87 countries based on next-generation sequencing of 1.3 million individuals sampled from 3 national DKMS donor centers. *Hum Immunol* 2017;78:710–7. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.10.001>.

- [72] Kulkarni S, Lied A, Kulkarni V, Rucevic M, Martin MP, Walker-Sperling V, et al. CCR5AS lncRNA variation differentially regulates CCR5, influencing HIV disease outcome. *Nat Immunol* 2019;20:824–34. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0406-1>.
- [73] Rostène W, Kitabgi P, Parsadaniantz SM. Chemokines: a new class of neuromodulator? *Nat Rev Neurosci* 2007;8:895–903. <https://doi.org/10.1038/nrn2255>.
- [74] Podolec J, Kopec G, Niewiara L, Komar M, Guzik B, Bartus K, et al. Chemokine RANTES is increased at early stages of coronary artery disease. *J Physiology Pharmacol Official J Pol Physiological Soc* 2016;67:321–8.
- [75] Choi JH, Pile-Spellman J. Reperfusion Changes After Stroke and Practical Approaches for Neuroprotection. *Neuroimag Clin N Am* 2018;28:663–82. <https://doi.org/10.1016/j.nic.2018.06.008>.
- [76] Sun M-S, Jin H, Sun X, Huang S, Zhang F-L, Guo Z-N, et al. Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy. *Oxid Med Cell Longev* 2018;2018:3804979. <https://doi.org/10.1155/2018/3804979>.
- [77] Agudelo SF, Corrales NZ, Jara AR. Rol del óxido nítrico en la fisiopatología del ictus cerebral. *Revista Medica Sinergia* 2020;5:e339. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i1.339>.
- [78] Jiang Z, Li C, Arrick DM, Yang S, Baluna AE, Sun H. Role of nitric oxide synthases in early blood-brain barrier disruption following transient focal cerebral ischemia. *Plos One* 2014;9:e93134. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093134>.
- [79] Sandoval KE, Witt KA. Blood-brain barrier tight junction permeability and ischemic stroke. *Neurobiol Dis* 2008;32:200–19. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.08.005>.
- [80] Liu H, Li J, Zhao F, Wang H, Qu Y, Mu D. Nitric oxide synthase in hypoxic or ischemic brain injury. *Rev Neuroscience* 2015;26:105–17. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0041>.
- [81] Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. *Neuron* 2010;67:181–98. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.07.002>.
- [82] Chamorro Á, Dirnagl U, Urra X, Planas AM. Neuroprotection in acute stroke: targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation. *Lancet Neurology* 2016;15:869–81. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(16\)00114-9](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(16)00114-9).
- [83] Picón-Pagès P, García-Buendía J, Muñoz FJ. Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. *Biochimica Et Biophysica Acta Bba - Mol Basis Dis* 2019;1865:1949–67. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.11.007>.
- [84] Miranda CAC, Varona MTB. Isquemia cerebral experimental y sus aplicaciones en la investigación en neurociencias. *Salud Uninorte* 2013;29:430–40.
- [85] Kvietys PR, Granger DN. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. *Free Radic Biology Medicine* 2011;52:556–92. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.002>.
- [86] Pérez-Neri I. Casi todo sobre el óxido nítrico. *Archivos de Neurociencias* 2015;20:271–80.
- [87] Villalonga JM. Fisiopatología de la isquemia cerebral. ICG Marge, SL; 2008.
- [88] Nash KM, Schiefer IT, Shah ZA. Development of a reactive oxygen species-sensitive nitric oxide synthase inhibitor for the treatment of ischemic stroke. *Free Radic Biology Medicine* 2017;115:395–404. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.027>.
- [89] Katusic ZS, Austin SA. Neurovascular Protective Function of Endothelial Nitric Oxide – Recent Advances –. *Circ J* 2016;80:1499–503. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-16-0423>.
- [90] Su Y. Regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase Activity by Protein-Protein Interaction. *Curr Pharm Design* 2014;20:3514–20. <https://doi.org/10.2174/13816128113196660752>.
- [91] Chen Z-Q, Mou R-T, Feng D-X, Wang Z, Chen G. The role of nitric oxide in stroke. *Medical Gas Res* 2017;7:194–203. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.215750>.
- [92] Lai TW, Zhang S, Wang YT. Excitotoxicity and stroke: Identifying novel targets for neuroprotection. *Prog Neurobiol* 2014;115:157–88. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.11.006>.
- [93] McCullough LD, Zeng Z, Blizzard KK, Debchoudhury I, Hurn PD. Ischemic Nitric Oxide and Poly (ADP-Ribose) Polymerase-1 in Cerebral Ischemia: Male Toxicity, Female Protection. *J Cereb Blood Flow Metabolism* 2004;25:502–12. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600059>.
- [94] Yuan M, Siegel C, Zeng Z, Li J, Liu F, McCullough LD. Sex differences in the response to activation of the poly (ADP-ribose) polymerase pathway after experimental stroke. *Exp Neurol* 2009;217:210–8. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.02.012>.
- [95] Tran J, Magenau A, Rodriguez M, Rentero C, Royo T, Enrich C, et al. Activation of Endothelial Nitric Oxide (eNOS) Occurs through Different Membrane Domains in Endothelial Cells. *Plos One* 2016;11:e0151556. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151556>.
- [96] Zhu J, Song W, Li L, Fan X. Endothelial nitric oxide synthase: a potential therapeutic target for cerebrovascular diseases. *Mol Brain* 2016;9:30. <https://doi.org/10.1186/s13041-016-0211-9>.

- [97] Lindvall O, Kokaia Z. Neurogenesis following Stroke Affecting the Adult Brain. *Csh Perspect Biol* 2015;7:a019034. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019034>.
- [98] Zhang RL, Zhang ZG, Chopp M. Targeting nitric oxide in the subacute restorative treatment of ischemic stroke. *Expert Opin Inv Drug* 2013;22:843–51. <https://doi.org/10.1517/13543784.2013.793672>.
- [99] Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Bmj* 2009;339:b2535. <https://doi.org/10.1136/bmj.b2535>.
- [100] Terao S, Yilmaz G, Stokes KY, Russell J, Ishikawa M, Kawase T, et al. Blood cell-derived RANTES mediates cerebral microvascular dysfunction, inflammation, and tissue injury after focal ischemia-reperfusion. *Stroke J Cereb Circulation* 2008;39:2560–70. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.107.513150>.
- [101] Sorce S, Bonnefont J, Julien S, Marq-Lin N, Rodriguez I, Dubois-Dauphin M, et al. Increased brain damage after ischaemic stroke in mice lacking the chemokine receptor CCR5. *Brit J Pharmacol* 2010;160:311–21. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00697.x>.
- [102] Sieber MW, Claus RA, Witte OW, Frahm C. Attenuated inflammatory response in aged mice brains following stroke. *Plos One* 2011;6:e26288. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026288>.
- [103] Wolinski P, Glabinski A. Chemokines and Neurodegeneration in the Early Stage of Experimental Ischemic Stroke. *Mediat Inflamm* 2013;2013:1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/727189>.
- [104] Tokami H, Ago T, Sugimori H, Kuroda J, Awano H, Suzuki K, et al. RANTES has a potential to play a neuroprotective role in an autocrine/paracrine manner after ischemic stroke. *Brain Res* 2013;1517:122–32. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.04.022>.
- [105] Li L, Zhi D, Shen Y, Liu K, Li H, Chen J. Effects of CC-chemokine receptor 5 on ROCK2 and P-MLC2 expression after focal cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats. *Brain Injury* 2016;30:468–73. <https://doi.org/10.3109/02699052.2015.1129557>.
- [106] Fan Y, Xiong X, Zhang Y, Yan D, Jian Z, Xu B, et al. MKEY, a Peptide Inhibitor of CXCL4-CCL5 Heterodimer Formation, Protects Against Stroke in Mice. *J Am Heart Assoc* 2016;5. <https://doi.org/10.1161/jaha.116.003615>.
- [107] Victoria ECG, Toscano EC de B, Cardoso AC de S, Silva DG da, Miranda AS de, Barcelos L da S, et al. Knockdown of C-C chemokine receptor 5 (CCR5) is protective against cerebral ischemia and reperfusion injury. *Curr Neurovasc Res* 2017;14. <https://doi.org/10.2174/1567202614666170313113056>.
- [108] Li P, Wang L, Zhou Y, Gan Y, Zhu W, Xia Y, et al. C-C Chemokine Receptor Type 5 (CCR5)-Mediated Docking of Transferred Tregs Protects Against Early Blood-Brain Barrier Disruption After Stroke. *J Am Heart Assoc* 2017;6. <https://doi.org/10.1161/jaha.117.006387>.
- [109] Victoria ECG, Toscano EC de B, Oliveira FMS, Carvalho BA de, Caliarí MV, Teixeira AL, et al. Up-regulation of brain cytokines and metalloproteinases 1 and 2 contributes to neurological deficit and brain damage in transient ischemic stroke. *Microvasc Res* 2019;129:103973. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2019.103973>.
- [110] Joy MT, Assayag EB, Shabashov-Stone D, Liraz-Zaltsman S, Mazzitelli J, Arenas M, et al. CCR5 Is a Therapeutic Target for Recovery after Stroke and Traumatic Brain Injury. *Cell* 2019;176:1143-1157.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.044>.
- [111] Ping S, Qiu X, Kyle M, Zhao L-R. Brain-derived CCR5 Contributes to Neuroprotection and Brain Repair after Experimental Stroke. *Aging and Disease* n.d.:0. <https://doi.org/https://doi.org/10.14336/AD.2020.0406>.
- [112] Chen C, Chu S, Ai Q, Zhang Z, Chen N. CKLF1/CCR5 axis is involved in neutrophils migration of rats with transient cerebral ischemia. *Int Immunopharmacol* 2020;85:106577. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106577>.
- [113] Afzal AR, Kiechl S, Daryani YP, Weerasinghe A, Zhang Y, Reindl M, et al. Common CCR5- Δ 32 Frameshift Mutation Associated With Serum Levels of Inflammatory Markers and Cardiovascular Disease Risk in the Bruneck Population. *Stroke* 2008;39:1972–8. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.107.504381>.
- [114] Ghilardi G, Biondi ML, Turri O, Pateri F, d'Eril GM, Scorza R. Genetic control of chemokines in severe human internal carotid artery stenosis. *Cytokine* 2008;41:24–8. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2007.10.007>.
- [115] Kostulas N, Nikolaos K, Markaki I, Ioanna M, Kostulas V, Vasilios K, et al. Common CCR 5 polymorphism in stroke: the CCR 5 Δ 32 polymorphism differentiates cardioembolism from other aetiologies of ischaemic cerebrovascular diseases. *Scand J Immunol* 2009;70:475–80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2009.02323.x>.
- [116] Zhao N, Liu X, Wang Y, Liu X, Li J, Yu L, et al. Association of inflammatory gene polymorphisms with ischemic stroke in a Chinese Han population. *J Neuroinflamm* 2012;9:162. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-162>.
- [117] Dinh KM, Pedersen OB, Petersen MS, Sørensen E, Sørensen CJ, Kaspersen KA, et al. The impact of CCR5- Δ 32 deletion on C-reactive protein levels and cardiovascular disease: Results from the Danish Blood Donor Study. *Atherosclerosis* 2015;242:222–5. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.07.031>.
- [118] Palm F, Aigner A, Pussinen PJ, Urbanek C, Buggle F, Safer A, et al. Association of a Multigenetic Pro-Inflammatory Profile with Ischaemic Stroke. *Cerebrovasc Dis* 2020:1–7. <https://doi.org/10.1159/000507042>.

- [119] Yamaguchi S, Yamada Y, Metoki N, Yoshida H, Satoh K, Ichihara S, et al. Genetic risk for atherothrombotic cerebral infarction in individuals stratified by sex or conventional risk factors for atherosclerosis. *Int J Mol Med* 2006. <https://doi.org/10.3892/ijmm.18.5.871>.
- [120] Um J-Y, Kim H-M. Polymorphisms of RANTES and IL-4 Genes in Cerebral Infarction. *J Mol Neurosci* 2009;37:1–5. <https://doi.org/10.1007/s12031-008-9047-9>.
- [121] Qin X, He Z, Zhao D, Li L, Yuan L. The RANTES gene promoter polymorphisms are associated with the risk of atherothrombotic cerebral infarction in Northern Han Chinese. *Clin Chimica Acta Int J Clin Chem* 2011;412:1112–5. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.02.033>.
- [122] Park HJ, Yun DH, Kim SK, Chung J-H, Lee JS, Park H-K, et al. Association of CXCL1 promoter polymorphism with ischaemic stroke in Korean population. *Int J Immunogenet* 2012;40:306–10. <https://doi.org/10.1111/iji.12009>.
- [123] Zaremba J, Ilkowski J, Losy J. Serial measurements of levels of the chemokines CCL2, CCL3 and CCL5 in serum of patients with acute ischaemic stroke. *Folia Neuropathologica Assoc Pol Neuropathologists Medical Res Centre Pol Acad Sci* 2006;44:282–9.
- [124] Montecucco F, Lenglet S, Gayet-Ageron A, Bertolotto M, Pelli G, Palombo D, et al. Systemic and Intraplaque Mediators of Inflammation Are Increased in Patients Symptomatic for Ischemic Stroke. *Stroke* 2010;41:1394–404. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.110.578369>.
- [125] Canoui-Poitaine F, Luc G, Mallat Z, Machez E, Bingham A, Ferrieres J, et al. Systemic chemokine levels, coronary heart disease, and ischemic stroke events. *Neurology* 2011;77:1165–73.
- [126] Chalouhi N, Points L, Pierce GL, Ballas Z, Jabbour P, Hasan D. Localized Increase of Chemokines in the Lumen of Human Cerebral Aneurysms. *Stroke* 2013;44:2594–7. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.113.002361>.
- [127] García-Berrocó T, Giralt D, Llombart V, Bustamante A, Penalba A, Flores A, et al. Chemokines after human ischemic stroke: From neurovascular unit to blood using protein arrays. *Transl Proteom* 2014;3:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.trprot.2014.03.001>.
- [128] Ahn S-H, Savarraj JPJ, Parsha K, Hergenroeder GW, Chang TR, Kim DH, et al. Inflammation in delayed ischemia and functional outcomes after subarachnoid hemorrhage. *J Neuroinflamm* 2019;16:213. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1578-1>.
- [129] Badacz R, Podolec J, Przewlocki T, Siedlinski M, Jozefczuk E, Oleksy H, et al. The role of chemokine CCL5/RANTES and metalloproteinase-9 as inflammatory modulators in symptomatic internal carotid artery stenosis. *J Physiol Pharmacol* 2019;70:545–55.
- [130] Kong Q, Ma X, Lyu J-X, Wang C, Du X-Y, Guan Y-Q. Plasma RANTES level is correlated with cardio-cerebral atherosclerosis burden in patients with ischemic cerebrovascular disease. *Chronic Dis Transl Medicine* 2020;6:46–54. <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2020.02.001>.
- [131] Chaudhry SR, Kinfe TM, Lamprecht A, Niemelä M, Dobrev G, Hänggi D, et al. Elevated level of cerebrospinal fluid and systemic chemokine CCL5 is a predictive biomarker of clinical outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). *Cytokine* 2020;133:155142. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155142>.
- [132] Iida Y, Xu B, Xuan H, Glover KJ, Tanaka H, Hu X, et al. Peptide Inhibitor of CXCL4–CCL5 Heterodimer Formation, MKEY, Inhibits Experimental Aortic Aneurysm Initiation and Progression. *Arteriosclerosis Thrombosis Vasc Biology* 2018;33:718–26. <https://doi.org/10.1161/atvbaha.112.300329>.